



## DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIEE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

<p>(51) Classification internationale des brevets <sup>6</sup> :  <b>C07K 7/64</b></p>	<p><b>A1</b></p>	<p>(11) Numéro de publication internationale: <b>WO 99/32512</b>  (43) Date de publication internationale: 1er juillet 1999 (01.07.99)</p>
<p>(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR98/02745  (22) Date de dépôt international: 16 décembre 1998 (16.12.98)  (30) Données relatives à la priorité:  97/16189 19 décembre 1997 (19.12.97) FR  (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US):  RHONE-POULENC RORER S.A. [FR/FR]; 20, avenue Raymond Aron, F-92160 Antony (FR).  (72) Inventeurs; et  (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): AMOURET, Guy [FR/FR]; 112, rue Emile Zola, F-94260 Fresnes (FR). GUERREIRO, Antonio [FR/FR]; 11, rue des Foins, F-77380 Combs la Ville (FR). VISKOV, Christian [FR/FR]; 3, rue du Béarn, F-91130 Ris Orangis (FR). MIGNANI, Serge [FR/FR]; 14, avenue de Robinson, F-92290 Chateaufort (FR). EVERS, Michel [BE/FR]; 8, rue Robert Schumann, F-94510 La Queue en Brie (FR). BARRIERE, Jean-Claude [FR/FR]; 24, rue Max Ernst, F-91400 Bures sur Yvette (FR). BASHIADES, Georges [CY/FR]; 59, rue Maurepas, F-94320 Thiais (FR). CARRY, Jean-Christophe [FR/FR]; 15, rue des Peupliers, F-92190 Meudon (FR). FILOCHE, Bruno [FR/FR]; 9, avenue de Ceinture, F-94000 Créteil (FR).</p>		<p>(74) Mandataire: NIEDERST, Claire; Rhône-Poulenc Rorer S.A., Direction Brevets, 20, avenue Raymond Aron, F-92160 Antony Cedex (FR).  (81) Etats désignés: AL, AU, BA, BB, BG, BR, CA, CN, CU, CZ, EE, GD, GE, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KP, KR, LC, LK, LR, LT, LV, MG, MK, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, SL, TR, TT, UA, US, UZ, VN, YU, brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), brevet eurasiatique (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).  Publiée  Avec rapport de recherche internationale.  Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues.</p>
<p>(54) Title: NOVEL METHOD FOR PREPARING CYLOSPORIN DERIVATIVES</p>		
<p>(54) Titre: NOUVEAU PROCEDE DE PREPARATION DE DERIVES DE CYCLOSPORINE</p>		
<p>(57) Abstract</p>		
<p>The invention concerns a novel method for preparing a polyanion useful for preparing cyclosporin derivatives modified in position -3 by treating a cyclosporin with an alkali amide in liquid ammonia or in an aliphatic amine of low molecular weight, in the presence of a cosolvent, and optionally in the presence of dimethylpropyleneurea (DMPU). The treated cyclosporin has one or several free hydroxy groups and/or non-methylated nitrogen atoms in position <math>\alpha</math> and/or any other acid group capable of being subjected to deprotonation and which are optionally subjected to deprotonation, or are in protected form.</p>		
<p>(57) Abrégé</p>		
<p>Nouveau procédé de préparation d'un polyanion utile pour la préparation de dérivés de cyclosporine modifiés en position -3 par traitement d'une cyclosporine par un amidure alcalin dans l'ammoniac liquide ou dans une amine aliphatique de bas poids moléculaire, en présence d'un cosolvant, et éventuellement en présence de diméthylpropylèneurée (DMPU). La cyclosporine traitée possède un ou des groupements hydroxy libres et/ou un ou des atomes d'azote non-méthylés en position <math>\alpha</math> et/ou tout autre groupement acide déprotonable qui sont éventuellement déprotonés, ou sont sous forme protégée.</p>		

# **UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION**

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

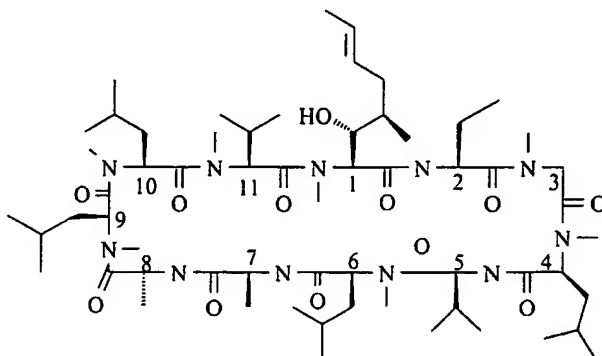
AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

## NOUVEAU PROCÉDÉ DE PRÉPARATION DE DÉRIVÉS DE CYCLOSPORINE

La présente invention se rapporte à un nouveau procédé de préparation de dérivés de cyclosporine modifiés en position -3, qui consiste à traiter une cyclosporine avec un amidure alcalin dans l'ammoniac liquide ou bien dans une amine aliphatique.

- 5 Les cyclosporines constituent un groupe de undécapeptides poly-N-méthylés cycliques qui possèdent communément des propriétés immunosuppressives, anti-inflammatoires, et anti-parasitaires.

Une des premières cyclosporines naturelles à avoir été isolée est connue sous le nom de cyclosporine A dont la structure est la suivante :



10

Aujourd'hui, de nombreuses cyclosporines naturelles sont connues et isolées (par exemple les cyclosporines A à Z ci-après dénommées "cyclosporines"), et de nombreuses cyclosporines de synthèse ont été préparées (ci-après dénommées "dérivés de cyclosporine").

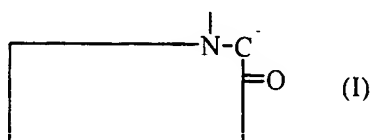
- 15 Actuellement, les dérivés de cyclosporine modifiés en positions -3 sont obtenus selon la méthode décrite dans le brevet EP 194 972. Cette méthode consiste notamment à traiter dans un premier temps une cyclosporine avec un dérivé organométallique sous atmosphère inerte, puis à préparer dans un second temps des dérivés de cyclosporine modifiés en position -3 par addition d'un agent électrophile. Le principal inconvénient
- 20 de cette méthode réside dans le fait que le rendement global est généralement extrêmement faible. Par ailleurs, il est nécessaire de travailler en présence d'un très

large excès d'électrophile. Par cette méthode, il se forme de plus l'épimère S en quantité importante par rapport à l'épimère R.

Aujourd'hui, la demanderesse a montré que le procédé selon l'invention permet d'aboutir à des dérivés de cyclosporine modifiés en position -3 avec un rendement nettement amélioré. Un autre avantage de ce procédé réside dans le fait que la  
 5 réaction est menée à une température beaucoup moins basse et avec un excès d'électrophile nettement moins important, ce qui facilite la mise en oeuvre à l'échelle industrielle. La demanderesse a également mis en évidence que l'épimère R requis est formé de façon beaucoup plus sélective.

10 La présente invention se rapporte ainsi à un procédé de préparation d'un polyanion utile pour la préparation de dérivés de cyclosporine modifiés en position -3 caractérisé en ce que l'on traite une cyclosporine par un amidure alcalin dans un mélange binaire comprenant de l'ammoniac liquide ou une amine aliphatique de bas  
 15 poids moléculaire et un cosolvant, éventuellement en présence de diméthylpropylénurée (DMPU).

Le polyanion obtenu a pour formule générale :



dans laquelle  $\boxed{\phantom{cyclosporine}}$  représente une cyclosporine pour laquelle un ou des groupements hydroxy libres et/ou un ou des atomes d'azote non-méthylés en position  
 20  $\alpha$  et/ou tout autre groupement acide déprotonable sont éventuellement déprotonés, ou sont sous forme protégée.

Au sens de la présente invention, on entend par amine aliphatique de bas poids moléculaire toute amine aliphatique mono- di- ou tri-alkylée, les radicaux alkyle pouvant éventuellement former un hétérocycle saturé contenant 5 ou 6 chaînons avec  
 25 l'atome d'azote auquel ils sont rattachés, ou les radicaux alkyle étant droits ou

ramifiés et contenant 1 à 4 atomes de carbone. De façon avantageuse, l'amine aliphatique de bas poids moléculaire est la méthylamine.

Selon l'invention, on opère en présence de 10 à 20 moles d'amidure alcalin par mole de cyclosporine, et avantageusement entre 14 et 17 moles d'amidure alcalin par mole  
5 de cyclosporine. Notamment, l'amidure alcalin peut être l'amidure de sodium, l'amidure de potassium, le sel de lithium de l'hexaméthylidisilazane, ou le sel de sodium de l'hexaméthylidisilazane.

Généralement, on effectue la réaction dans un mélange binaire comprenant 25 % à 75 % en volume d'ammoniac liquide ou d'une amine aliphatique de bas poids  
10 moléculaire dans un cosolvant. Notamment, le cosolvant est un éther aliphatique ou cyclique, un hydrocarbure aromatique, ou la pyridine. A titre d'exemple, on peut citer le tétrahydrofuranne (THF), le *t*-butylméthyléther (TBME), le diméthoxyéthane (DME), l'anisole, le dioxanne, ou le toluène. De façon préférée, on opère dans un mélange binaire comprenant 40 % à 60 % en volume d'ammoniac liquide ou d'amine  
15 aliphatique de bas poids moléculaire, et plus préférentiellement entre 50 % et 60 % en volume d'ammoniac liquide, et encore plus préférentiellement on opère dans un mélange binaire comprenant environ 55 % en volume d'ammoniac liquide.

Le traitement de la cyclosporine par un amidure alcalin en solution dans un mélange binaire comprenat de l'ammoniac liquide ou une amine aliphatique de bas poids  
20 moléculaire et un cosolvant, éventuellement en présence de DMPU, est mis en oeuvre à une température comprise entre -38°C et la température d'ébullition de l'ammoniac liquide ou de l'amine aliphatique de bas poids moléculaire, lorsque celle-ci est inférieure à 0°C, ou bien dans le cas contraire à une température comprise entre -38°C et 0°C.

25 Notamment, lorsque ledit traitement est effectué dans un mélange binaire comprenant de l'ammoniac liquide, la température de la réaction est comprise entre -38°C et -32°C, et préférentiellement entre -35°C et -32°C. Encore plus préférentiellement, la réaction est mise en oeuvre à environ -33°C. Lorsque ledit traitement est effectué

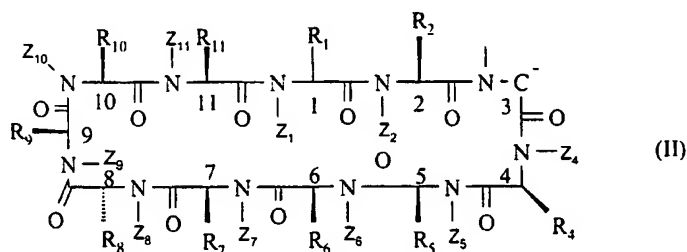
dans un mélange binaire comprenant de la méthylamine, la température de réaction est comprise entre  $-8^{\circ}\text{C}$  et  $-4^{\circ}\text{C}$ , et de façon préférée, la température est environ  $-6^{\circ}\text{C}$ .

- Par ailleurs, le ratio (poids/poids) de cyclosporine mis en jeu par rapport au poids total de la solution contenant la cyclosporine, l'amidure alcalin, le mélange binaire comprenant de l'ammoniac liquide ou une amine aliphatique de bas poids moléculaire et un cosolvant, et éventuellement la DMPU, est généralement inférieur ou égal à 15 %. Lorsque la réaction est effectuée sans DMPU, le ratio de cyclosporine par rapport au poids total de la solution est de préférence inférieur ou égal à 6 %, et encore plus avantageusement, ce ratio est compris entre 2 % et 5 %. Lorsque la réaction est effectuée en présence de DMPU le ratio de cyclosporine par rapport au poids total de la solution est de préférence inférieur ou égal à 12 %.

Selon une variante de l'invention, on ajoute le mélange binaire d'ammoniac liquide ou d'amine aliphatique de bas poids moléculaire et de cosolvant, à un mélange contenant l'amidure alcalin sous forme solide, la cyclosporine et éventuellement la DMPU.

- Selon une autre alternative, on peut ajouter le mélange binaire contenant l'ammoniac liquide ou à l'amine aliphatique de bas poids moléculaire et le cosolvant à un mélange contenant la cyclosporine, éventuellement la DMPU, et le métal alcalin correspondant à l'amidure alcalin en présence d'un sel ferrique (par exemple le nitrate ferrique).

- Selon un aspect préféré de la présente invention, le polyanion obtenu a pour formule :



pour laquelle :

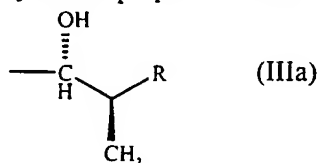
i) Les substituants  $R_1$  à  $R_{11}$  et  $Z_1$  à  $Z_{11}$  sont définis comme pour la cyclosporine A, ou bien

ii) Les substituants  $R_1$  à  $R_{11}$  et  $Z_1$  à  $Z_{11}$  sont définis comme pour la cyclosporine A, à l'exception de  $R_4$  et  $Z_4$  qui sont définis de façon à avoir en position -4 l'acide aminé

5 4'-(hydroxy)méthylleucine (4'-(hydroxy)MeLeu), ou bien

iii) Les substituants  $R_2$ ,  $R_5$  à  $R_{11}$  et  $Z_2$ ,  $Z_5$  à  $Z_{11}$  sont définis comme pour la cyclosporine A, et

- $Z_1$  est un groupement méthyle, et  $R_1$  a pour formule :



10 - R étant un groupement de formule  $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{R}'$  pour lequel  $\text{R}'$  représente un radical alkylthio, aminoalkylthio, alkylaminoalkylthio, dialkyl-aminoalkylthio, pyrimidinylthio, thiazolylthio, N-alkylimidazolylthio, hydroxy-alkylphénylthio, hydroxyalkylphényloxy, nitrophénylamino, ou 2-oxopyrimidin-1-yle, ou

15 - R étant un groupement de formule  $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{Alk}$  pour lequel Alk représente un groupement alkyle, et

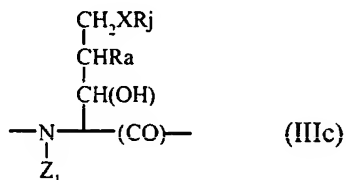
- $Z_4$  et  $R_4$  sont des radicaux tels que l'on a en position -4 un acide aminé MeLeu ou 4'-hydroxyMeLeu, ou bien,

iv)  $Z_1$  et  $R_1$  sont des groupements tels que l'on a en position -1 une homothréonine substituée de formule générale :



dans laquelle  $\text{R}_i$  représente le *n*-propyle ou le propényle et la double liaison présente de préférence une configuration trans, et

- R<sub>2</sub> et Z<sub>2</sub> sont des radicaux tels que l'on a en position -2 l'acide alpha-aminobutyrique ( $\alpha$ Abu), la valine (Val), la norvaline (Nva), ou la thréonine (Thr), et
  - R<sub>4</sub> et Z<sub>4</sub> sont des radicaux tels que l'on a en position -4 la N-méthyl-gamma-hydroxy-leucine ou la N-méthyl-gamma-acétyloxy-leucine, et
  - R<sub>5</sub> et Z<sub>5</sub> sont des radicaux tels que l'on a en position -5 la valine, et
  - R<sub>6</sub>, Z<sub>6</sub>, R<sub>9</sub>, Z<sub>9</sub>, R<sub>10</sub> et Z<sub>10</sub> sont des radicaux tels que l'on a en position -6, -9, et -10 la N-méthylleucine, et
  - Z<sub>7</sub> et R<sub>7</sub> sont des radicaux tels que l'on a en position -7 l'alanine (Ala), et
  - Z<sub>8</sub> et R<sub>8</sub> sont des radicaux tels que l'on a en position -8 la (D)-alanine ou la (D)-sérine, et
  - Z<sub>11</sub> et R<sub>11</sub> sont des radicaux tels que l'on a en position -11 la N-méthyl-valine, ou bien,
- v) Z<sub>1</sub> et R<sub>1</sub> sont des groupements tels que l'on a en position -1 un substituant méthyl-
- (4R)-4-[(E)-2-butényl-4-méthyl-L-thréonine (MeBmt) ou un substituant ayant pour formule générale :



- R<sub>j</sub> représentant un atome d'hydrogène, ou un groupement alkyle inférieur, un alcényle inférieur, un halogénoalkyle inférieur, un aryle, un alkyloxy inférieur, un alkoxy C<sub>1-6</sub>alkyle, un hydroxyméthyle, un alkylthio inférieur, un alkylthioC<sub>1-6</sub>alkyle, un mercaptoC<sub>1-6</sub>alkyle, ou un hétéroaryle, les groupements aryle et hétéroaryle pouvant être substitués avec un ou plusieurs groupements fonctionnels alkyle C<sub>1-6</sub>, alcanoyle C<sub>1-6</sub>, halogénoalkyle C<sub>1-6</sub>, halogène, cyano, hydroxyalkyle C<sub>1-3</sub>, alkyloxy C<sub>1-6</sub>, alkyl-S(O)<sub>n</sub> C<sub>1-6</sub> avec n = 0, 1, ou 2, NR<sub>b</sub>COR<sub>c</sub> avec R<sub>b</sub> et R<sub>c</sub> représentant indépendamment H ou un alkyle C<sub>1-6</sub>, -NO<sub>2</sub>, -NR<sub>b</sub>R<sub>c</sub>, -OR<sub>b</sub>, -CONR<sub>b</sub>R<sub>c</sub>, -COR<sub>b</sub>, -NR<sub>b</sub>CONR<sub>b</sub>R<sub>c</sub>, NR<sub>b</sub>COR<sub>c</sub>, -OCOR<sub>b</sub>, -SCOR<sub>b</sub>, ou -OCH<sub>2</sub>O-, et



$R_a$  étant un alkyle inférieur,  $Z_1$  étant un alkyle inférieur, un phénylalkyle inférieur, ou un aryle, et X représentant S, SO, SO<sub>2</sub>, O, ou bien NR<sub>b</sub>, et

- $Z_2$  et  $R_2$  sont des substituants tels que l'on a en position -2 l'acide aminé L-2-aminobutyryle, norvalyle, L-thréonyle, ou bien le même acide aminé qu'en position -1, et
- $Z_4$  et  $R_4$  sont des substituants tels que l'on a en position -4 l'acide aminé N-méthyl-L-leucyle, et
- $Z_5$  et  $R_5$  sont des substituants tels que l'on a en position -5 l'acide aminé L-valyle, ou norvalyle, et
- $Z_6$  et  $R_6$  sont des substituants tels que l'on a en position -6 l'acide aminé N-méthyl-L-leucyle, et
- $Z_7$  et  $R_7$  sont des substituants tels que l'on a en position -7 l'acide aminé L-alanyle, L-2-aminobutyryle, ou L-phénylalanyle, et
- $Z_8$  et  $R_8$  sont des substituants tels que l'on a en position -8 l'acide aminé D-alanyle ou L-alanyle, et
- $Z_9$  et  $R_9$  sont des substituants tels que l'on a en position -9 l'acide aminé N-méthyl-L-leucyle ou N-méthyl-L-valyle, et
- $Z_{10}$  et  $R_{10}$  sont des substituants tels que l'on a en position -10 l'acide aminé N-méthyl-L-leucyle ou L-leucyle, et
- $Z_{11}$  et  $R_{11}$  sont des substituants tels que l'on a en position -11 l'acide aminé N-méthyl-L-valyle, L-valyle, ou L-2-aminobutyryle, ou bien

vi) Les substituants  $R_4$  à  $R_{11}$ , et  $Z_4$  à  $Z_{11}$  sont définis comme pour la cyclosporine A, et :

- $Z_1$  et  $R_1$  sont des substituants tels que l'on a en position -1 l'acide aminé MeBmt ou dihydro-MeBmt, et
- $Z_2$  et  $R_2$  sont des substituants tels que l'on a en position -2 l'acide aminé  $\alpha$ Abu, Thr, Val, ou Nva, ou bien

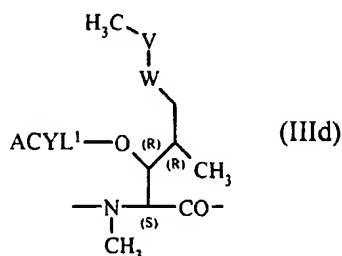
vii) Les substituants R<sub>7</sub> à R<sub>11</sub>, et Z<sub>7</sub> à Z<sub>11</sub> sont définis comme pour la cyclosporine A, et :

- Z<sub>1</sub> et R<sub>1</sub> sont des substituants tels que l'on a en position -1 l'acide aminé MeBmt, dihydro-MeBmt, ou 8'-hydroxy-MeBmt, et
- 5 • Z<sub>2</sub> et R<sub>2</sub> sont des substituants tels que l'on a en position -2 l'acide aminé αAbu, Val, Thr, Nva, ou méthyl-O-thréonine (MeOThr), et
- Z<sub>4</sub> et R<sub>4</sub> sont des substituants tels que l'on a en position -4 l'acide aminé MeLeu, γ-hydroxy-MeLeu, MeIle, MeVal, MeThr, MeAla, MeaIle, ou MeaThr, et
- Z<sub>5</sub> et R<sub>5</sub> sont des substituants tels que l'on a en position -5 l'acide aminé Val, Leu, 10 MeVal, ou MeLeu, et
- Z<sub>6</sub> et R<sub>6</sub> sont des substituants tels que l'on a en position -6 l'acide aminé MeLeu, γ-hydroxy-MeLeu, ou MeAla,

à condition que lorsque R<sub>4</sub> et Z<sub>4</sub> signifient MeLeu, R<sub>5</sub> et Z<sub>5</sub> signifient alors MeVal ou MeLeu ou bien R<sub>1</sub> et Z<sub>1</sub> signifient 8'-hydroxy-MeBmt, ou bien

15 viii) Les substituants R<sub>1</sub> à R<sub>11</sub> et Z<sub>1</sub> à Z<sub>11</sub> définissent une cyclosporine pour laquelle le carbone en 3' du résidu en position -1 ou le carbone en β du résidu en position -2 est substitué par O-acyle ou oxo, et notamment

- Z<sub>1</sub> et R<sub>1</sub> sont des substituants tels que l'on a en position -1 un résidu de formule générale



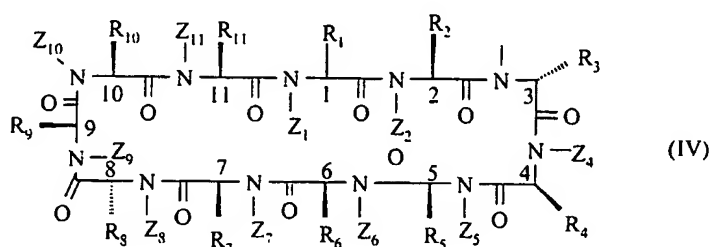
pour laquelle -v-w- est  $\text{CH}_2\text{-CH}_2$  ou  $\text{CH=CH}$  trans et  $\text{ACYL}^1$  représente un groupe acyle, et

- $Z_2$  et  $R_2$  sont des substituants tels que l'on a en position -2 un acide aminé  $\alpha$ Abu, Val, Thr, Nva, ou le résidu d'un  $\alpha$ -acide aminé  $\beta$ -O-acylé, et

- $Z_5$  et  $R_5$  sont des substituants tels que l'on a en position -5 un acide aminé Val, ou Nva lorsque l'on a simultanément un acide aminé Nva en position -2, et
- $Z_8$  et  $R_8$  sont des substituants tels que l'on a en position -8 un acide aminé (D)-Ala, un résidu d'un  $\alpha$ -acide aminé  $\beta$ -O-acylé ou  $\beta$ -hydroxylé ayant la configuration (D), et
- les substituants en position -4, -6, -7, et -9 à -11 sont définis comme pour la cyclosporine A,

un ou des groupements hydroxy et/ou un ou des atomes d'azote non-méthylés en position  $\alpha$  et/ou tout autre groupement acide déprotonable présents dans ladite formule générale (II) étant éventuellement déprotonés, ou étant sous forme protégée.

Les polyanions résultants du procédé selon l'invention sont particulièrement intéressants comme intermédiaires pour la préparation de dérivés de cyclosporine de formule générale :

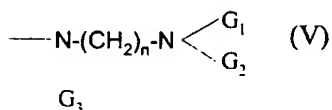


pour laquelle :

- 1) les substituants  $R_1$  à  $R_{11}$  et  $Z_1$  à  $Z_{11}$  sont tels que définis ci-avant en i), et  $R_3$  représente un substituant -S-Alk- $R^\circ$  pour lequel :
  - Alk représente un radical alkylène contenant 2 à 6 atomes de carbone en chaîne droite ou ramifiée ou cycloalkylène contenant 3 à 6 atomes de carbone et
  - $R^\circ$  représente
    - soit un radical carboxy ou alkyloxy-carbonyl,
    - soit un radical -NG<sub>1</sub>G<sub>2</sub> pour lequel G<sub>1</sub> et G<sub>2</sub>, identiques ou différents, représentent des atomes d'hydrogène, ou des radicaux alkyle, alcényle (2 à 4C), cycloalkyle (3 à 6C), phényle éventuellement substitué (par un atome d'halogène, alkyloxy,

alkyloxy-carbonyle, amino, alkylamino ou dialkylamino), ou représentent des radicaux benzyle ou hétérocyclyle saturé ou insaturé contenant 5 ou 6 chaînons et 1 à 3 hétéroatomes, ou pour lequel  $G_1$  et  $G_2$  forment avec l'atome d'azote auquel ils sont rattachés un hétérocycle contenant 4 à 6 chaînons, saturé ou insaturé, pouvant  
 5 contenir un autre hétéroatome choisi parmi l'azote, l'oxygène ou le soufre et éventuellement substitué par alkyle, phényle ou benzyle,

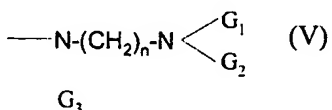
- soit un radical de formule générale :



pour lequel  $G_1$  et  $G_2$  sont définis comme ci-dessus,  $G_3$  représente un atome  
 10 d'hydrogène ou un radical alkyle et  $n$  est un nombre entier de 2 à 4, les portions ou radicaux alkyle définis ci-dessus étant droits ou ramifiés et contenant 1 à 4 atomes de carbone, ou bien

2) les substituants  $R_1$  à  $R_{11}$  et  $Z_1$  à  $Z_{11}$  sont tels que définis ci-avant en ii), et  $R_3$  représente  $-S-CH_3$  ou un substituant  $-S-Alk-R^\circ$  pour lequel :

- 15
- $Alk$  représente un radical alkylène contenant 2 à 6 atomes de carbone en chaîne droite ou ramifiée ou cycloalkylène contenant 3 à 6 atomes de carbone et
  - $R^\circ$  représente
    - soit un radical hydroxy, carboxy ou alkyloxy-carbonyle,
    - soit un radical  $-NG_1G_2$  ou un radical de formule générale :

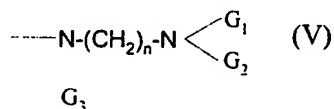


20

tels que définis ci-avant,

3) les substituants  $R_1$  à  $R_{11}$  et  $Z_1$  à  $Z_{11}$  sont tels que définis ci-avant en iii), et  $R_3$  est un radical de structure  $-S-Alk-R^\circ$  pour lequel :

- Alk représente un radical alkylène contenant 2 à 6 atomes de carbone en chaîne droite ou ramifiée ou cycloalkylène contenant 3 à 6 atomes de carbone et
- R° représente
  - soit un atome d'hydrogène, un radical hydroxy, carboxy ou alkyloxycarbonyle,
  - 5 • soit un radical -NG<sub>1</sub>G<sub>2</sub> pour lequel G<sub>1</sub> et G<sub>2</sub> identiques ou différents représentent des atomes d'hydrogène, ou des radicaux alkyle, cycloalkyle (3 à 6C), phényle éventuellement substitué (par un atome d'halogène, alkyloxy, alkyloxycarbonyle, amino, alkylamino ou dialkylamino), ou représentent des radicaux benzyle ou hétérocyclyle saturé ou insaturé contenant 5 ou 6 chaînons et 1 à 3 hétéroatomes,
  - 10 ou pour lequel G<sub>1</sub> et G<sub>2</sub> forment avec l'atome d'azote auquel ils sont rattachés un hétérocycle à 5 ou 6 chaînons pouvant contenir un autre hétéroatome choisi parmi l'azote, l'oxygène ou le soufre et éventuellement substitué par alkyle,
  - soit un radical de formule générale :



- 15 tel que défini précédemment, ou bien
- 4) les substituants R<sub>1</sub> à R<sub>11</sub> et Z<sub>1</sub> à Z<sub>11</sub> sont tels que définis ci-avant en iv), et R<sub>3</sub> est un substituant :
- alkyle en C<sub>2</sub> à C<sub>6</sub>, alcényle, alcynyle, linéaires ou ramifiés, ces groupes pouvant encore être substitués par un groupe hydroxy, amino, alkylamino en C<sub>1</sub> à C<sub>4</sub>,
  - 20 dialkylamino en C<sub>1</sub> à C<sub>3</sub>, alkyloxy, ou acyloxy, ou
  - COOG<sub>4</sub> ou CONHG<sub>4</sub>, G<sub>4</sub> étant un alkyle contenant 1 à 4 atomes de carbone linéaire ou ramifié, ou
  - -Y-G<sub>5</sub> dans laquelle Y représente un atome de soufre S ou d'oxygène O, et G<sub>5</sub> est un alkyle en C<sub>1</sub> à C<sub>4</sub>, un alcényle ou un alcynyle, linéaires ou ramifiés, et dans
  - 25 laquelle si Y est un atome de soufre S, G<sub>5</sub> peut être aussi un aryle ou un hétéroaryle,
  - ou

- un groupement halogène, ou cyano, ou
- $\text{CHG}_6\text{G}_7$ , dans laquelle  $\text{G}_6$  est un atome d'hydrogène, un groupement méthyle, éthyle, phényle, et  $\text{G}_7$  est un atome d'hydrogène, ou un groupe hydroxy, halogène, amino, alkylamino en  $\text{C}_1$  à  $\text{C}_4$ , dialkylamino en  $\text{C}_1$  à  $\text{C}_4$ , acyloxy, *t*-butoxycarbonyl-  
5 amino-éthoxy-éthoxy-acétyloxy, ou alkylloxycarbonyl, ou bien

5) Les substituants  $\text{R}_1$  à  $\text{R}_{11}$  et  $\text{Z}_1$  à  $\text{Z}_{11}$  sont tels que définis ci-avant en v), et  $\text{R}_3$  est un groupement tel que l'on a en position -3 un résidu  $\alpha$ -(méthylmercapto)-sarcosyl ou N-méthyl-(D)-alanyl, ou bien

- 6) Les substituants  $\text{R}_1$  à  $\text{R}_{11}$  et  $\text{Z}_1$  à  $\text{Z}_{11}$  sont tels que définis ci-avant en vi), et  $\text{R}_3$   
10 est un groupement  $\text{C}_{1-6}$ alkyle, halogéno $\text{C}_{1-6}$ alkyle, hydroxy $\text{C}_{1-6}$ alkyle, mercapto $\text{C}_{1-6}$ alkyle, amino  $\text{C}_{1-6}$ alkyle,  $\text{C}_{2-5}$ alkoxycarbonyl-amino-( $\text{C}_{1-4}$ alkyle), nitro $\text{C}_{1-6}$ alkyle, cyano $\text{C}_{1-5}$ alkyle,  $\text{C}_{1-6}$ alkoxy-( $\text{C}_{1-6}$ alkyle),  $\text{C}_{1-6}$ alkylthio-( $\text{C}_{1-6}$ alkyle),  $\text{C}_{2-7}$ alcanoyloxy-( $\text{C}_{1-6}$ alkyle),  $\text{C}_{2-7}$ diazoalcanoyloxy-( $\text{C}_{1-6}$ alkyle), carboxy-( $\text{C}_{1-6}$ alkyle),  $\text{C}_{2-7}$ alkoxycarbonyl-( $\text{C}_{1-6}$ alkyle), aminocarbonyl-( $\text{C}_{1-4}$ alkyle), aminocarbonyloxy-( $\text{C}_{1-4}$ alkyle), amino-( $\text{C}_{1-4}$ alcanoyloxy)-(C<sub>1-4</sub>alkyle).  
15 amino-( $\text{C}_{2-9}$ alkoxycarbonyl)-(C<sub>1-4</sub>alkyle),  $\text{C}_{2-7}$ alkylcarbonyl,  $\text{C}_{2-7}$ alkoxycarbonyl,  $\text{C}_{1-6}$ alkylthio, hydroxy- $\text{C}_{1-6}$ alkylthio,  $\text{C}_{1-6}$ alkoxy-( $\text{C}_{1-6}$ alkylthio),  $\text{C}_{2-11}$ alcanoyloxy-( $\text{C}_{2-4}$ alkylthio),  $\text{C}_{2-11}$ alcanoyloxy-( $\text{C}_{2-4}$ alkylsulfonyle),  $\text{C}_{2-11}$ alcanoyloxy-( $\text{C}_{2-4}$ alkylsulfonyle), aminocarbonyloxy-( $\text{C}_{2-4}$ alkylthio),  $\text{C}_{2-11}$ amino-alcanoyloxy-( $\text{C}_{2-4}$ alkylthio), aminocarbonyloxy-( $\text{C}_{2-4}$ alkylsulfonyle), aminocarbonyl-oxy-( $\text{C}_{2-4}$ alkylsulfonyle), aminoalcanoyloxy-( $\text{C}_{2-4}$ alkylsulfonyle), aminoalcanoyloxy-( $\text{C}_{2-4}$ alkylsulfonyle), aminocarbonyl,  $\text{C}_3$ -6alcényle,  $\text{C}_3$ -6alcynyle, halogéno $\text{C}_3$ -6alcényle, halogéno $\text{C}_3$ -6alcynyle, hydroxy $\text{C}_3$ -6alcényle, aryl-( $\text{C}_{1-6}$ alkyle), aryl-( $\text{C}_{1-6}$ alkyle) hydroxylé, aryl-( $\text{C}_3$ -6alcényle), aryl-  
25 ( $\text{C}_3$ -6alcynyle), aryl-( $\text{C}_3$ -6alcényle) hydroxylé, aryl-( $\text{C}_3$ -6alcynyle) hydroxylé, arylthio, hétéroarylthio, aryl-( $\text{C}_{2-5}$ alkoxycarbonylamino)-(C<sub>1-4</sub>alkyle), halogène, cyano, ou un groupe de formule  $\text{Q}-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_n-\text{CO}-\text{O}-\text{CH}_2-$  pour laquelle n est 1, 2, ou 3, et Q est amino, ou bien

7) les substituants  $R_1$  à  $R_{11}$  et  $Z_1$  à  $Z_{11}$  sont tels que définis ci-avant en vii), et  $R_3$  est un groupement tel que l'on a en position -3 un acide aminé (D)-MeAla, ou bien

8) les substituants  $R_1$  à  $R_{11}$  et  $Z_1$  à  $Z_{11}$  sont tels que définis ci-avant en viii), et  $R_3$  est un groupement tel que l'on a en position -3 un  $\alpha$ -acide aminé N-méthylé en position  $\alpha$  et ayant la configuration (D).

Les dérivés de cyclosporine de formule générale (IV) peuvent être obtenus par addition d'un agent électrophile sur le polyanion. Lorsque les substituants de cet agent peuvent interférer avec la réaction, il est préférable de les protéger préalablement avec des radicaux compatibles et pouvant être mis en place et éliminés sans toucher au reste de la molécule. L'addition peut être suivie le cas échéant des étapes de séparation et de purification du dérivé de cyclosporine de formule (IV) selon les méthodes connues de l'homme du métier.

Ainsi, un autre objet de la présente invention se rapporte à un procédé de préparation de dérivés de cyclosporine substitués en position -3 caractérisé en ce que l'on prépare un polyanion par traitement par un amidure alcalin d'une cyclosporine dans un mélange binaire comprenant de l'ammoniac liquide ou une amine aliphatique de bas poids moléculaire et un cosolvant, éventuellement en présence de diméthylpropylénurée, puis on additionne un agent électrophile, les radicaux hydroxy présents sur la cyclosporine et/ou les substituants de l'agent électrophile pouvant éventuellement interférer avec la réaction étant préalablement protégés, et élimine le cas échéant les radicaux protecteurs et/ou transforme éventuellement le produit obtenu en un sel lorsqu'ils existent.

Les dérivés de cyclosporine de formule générale (IV) dont les substituants sont définis comme en 1), 2), 3), ou 4) pour lesquels  $R_3$  est S-G5 peuvent être obtenus par addition sur un polyanion de formule générale (II) d'un disulfure de formule générale :



pour lequel G est Alk-R° ou G<sub>5</sub> tels que définis ci-avant en 1), 2), 3), ou 4), les fonctions du polyanion pouvant interférer avec la réaction ayant été le cas échéant préalablement protégées, suivie de l'élimination le cas échéant du/des radicaux protecteurs.

- 5 Le disulfure de formule générale (VI) est généralement additionné soit pur soit en solution dans un solvant organique tel qu'un hydrocarbure (toluène par exemple) ou un éther aliphatique ou cyclique (par exemple le dioxanne, le diéthyléther, le tétrahydrofuranne ou le *t*-butylméthyléther), à une température comprise entre -38°C et la température d'ébullition de l'ammoniac liquide ou de l'amine aliphatique de bas
- 10 poids moléculaire, et en tout état de cause à température inférieure à 0°C. Notamment on opère à une température comprise entre -35°C et -32°C, et préférentiellement à -33°C, lorsque le solvant dans lequel le polyanion est préparé est l'ammoniac liquide. Si le solvant utilisé pour la préparation du polyanion est la méthylamine, on opère à une température comprise entre -8°C et -4°C, et de préférence à -6°C.
- 15 Le disulfure de formule générale (VI) peut être obtenu à partir de deux molécules d'un composé de formule générale G-SH pour lequel G est Alk-R° ou G<sub>5</sub> tels que définis précédemment en 1), 2), 3), ou 4). On opère en milieu oxydant, dans un solvant organique (par exemple dans l'oxyde de diéthyle ou dans le dichlorométhane) ou dans un alcool (par exemple le méthanol ou l'éthanol), et en présence d'un
- 20 hydroxyde alcalin. Notamment, le milieu oxydant est obtenu par passage d'oxygène ou par adjonction de diiode dans un solvant organique, par exemple l'oxyde de diéthyle. De façon préférée, l'hydroxyde alcalin est l'hydroxyde de sodium.

Lorsque les substituants du radical G peuvent interférer avec la réaction, il est préférable de les protéger préalablement par des radicaux compatibles et pouvant être

25 mis en place et éliminés sans toucher au reste de la molécule. De plus les radicaux hydroxy présents sur la cyclosporine peuvent être éventuellement protégés par tout groupement qui n'interfère pas avec la réaction.



A titre d'exemple les groupements protecteurs peuvent être choisis parmi les radicaux décrits par T.W. GREENE, Protective Groups in Organic Synthesis, J. Wiley-Interscience Publication (1991) ou par Mc Omie, Protective Groups in Organic Chemistry, Plenum Press (1973).

- 5 Dans la formule générale (V), lorsque  $G_1$  et/ou  $G_2$  représentent un substituant hétérocyclyle, celui-ci peut être avantageusement choisi parmi pyridyle, tétrahydropyridyle, pipéridyle, imidazolyle, oxazolyle, thiazolyle.

Lorsque  $G_1$  et  $G_2$  forment un hétérocycle avec l'atome d'azote auquel ils sont  
rattachés, le radical hétérocyclyle peut être choisi à titre d'exemple parmi azétidinyle,  
10 pipéridyle, pipérazinyle, N-méthyl pipérazinyle, N-phényl pipérazinyle, N-benzyl  
pipérazinyle, pyridyle, imidazolyle, morpholino, thiomorpholino, tétrahydropyridyle,  
méthyl tétrahydropyridyle (par exemple 4-méthyl tétrahydropyridyle), phényl tétra-  
hydropyridyle (par exemple 4-phényl tétrahydropyridyle).

La réaction de thioalkylation peut être suivie le cas échéant des étapes de séparation  
15 et de purification du dérivé de cyclosporine de formule générale (IV) selon les  
méthodes connues de l'homme du métier. Notamment, on peut opérer par des  
méthodes telles que la cristallisation ou la chromatographie.

Les dérivés de formule générale (IV) pour laquelle les substituants  $R_1$  à  $R_{11}$  et  $Z_1$  à  
 $Z_{11}$  sont tels que définis en 4) à l'exception de  $R_3$  représentant S-G<sub>5</sub>, peuvent être  
20 obtenus à partir du polyanion selon l'invention par les méthodes décrites dans la  
demande de brevet WO 97/04005 ou par toute autre méthode équivalente.

Les dérivés de formule générale (IV) pour laquelle les substituants  $R_1$  à  $R_{11}$  et  $Z_1$  à  
 $Z_{11}$  sont tels que définis en 5) peuvent être obtenus à partir du polyanion selon  
l'invention par analogie avec les méthodes décrites dans la demande de brevet  
25 EP 194 972.

Les dérivés de formule générale (IV) pour laquelle les substituants  $R_1$  à  $R_{11}$  et  $Z_1$  à  
 $Z_{11}$  sont tels que définis en 6) peuvent être obtenus à partir du polyanion selon

l'invention par les méthodes décrites dans la demande de brevet EP 194 972 ou par toute autre méthode équivalente.

Les dérivés de formule générale (IV) pour laquelle les substituants  $R_1$  à  $R_{11}$  et  $Z_1$  à  $Z_{11}$  sont tels que définis en 7) peuvent être obtenus à partir du polyanion selon  
5 l'invention par analogie avec les méthodes décrites dans la demande de brevet EP 194 972.

Les dérivés de formule générale (IV) pour laquelle les substituants  $R_1$  à  $R_{11}$  et  $Z_1$  à  $Z_{11}$  sont tels que définis en 8) peuvent être obtenus à partir du polyanion selon  
10 l'invention par analogie avec les méthodes décrites dans la demande de brevet EP 194 972.

Il est entendu que les dérivés de cyclosporine obtenus peuvent être éventuellement transformés en sels lorsqu'ils existent.

Les dérivés de cyclosporine tels que définis en 1), 2), 3), 4), et 7) sont utiles pour le traitement et/ou la prophylaxie des infections à rétrovirus, et plus particulièrement du  
15 SIDA (syndrome d'immuno-déficience acquise) et de syndromes associés [ARC (AIDS related complex)]. Ils présentent l'avantage d'être très faiblement immunosuppresseurs.

Les dérivés de cyclosporine tels que définis en 5) présentent une activité immunosuppressive, et sont donc utiles pour le traitement de diverses maladies  
20 inflammatoires chroniques et des maladies autoimmunes.

Les dérivés de cyclosporine tels que définis en 6) et en 8) possèdent :

- soit une activité immunosuppressive, et ils sont donc utiles notamment pour le traitement et/ou la prophylaxie des maladies auto-immunes ou pour prévenir le rejet d'organes transplantés,
- 25 - soit une activité anti-inflammatoire, et ils sont donc notamment utiles pour le traitement d'inflammations comme par exemple l'arthrite et les maladies rhumatismales,

- soit une activité anti-parasitaire, et ils sont par exemple utiles pour le traitement de la schistosomiasis, la filariasis, la leishmaniasis, la coccidioidomycosis, ou de la malaria.

Les exemples suivants, donnés à titre non-limitatif, illustrent la présente invention.

### 5 Exemple 1

La [(R)-2-(hydroxy)éthylthio-Sar]<sup>3</sup> cyclosporine A peut être préparée selon la méthode suivante :

A 120 cm<sup>3</sup> d'ammoniac maintenus à une température voisine de -33°C, on ajoute 100 mg de sodium métallique puis 100 mg de nitrate ferrique. Dès que la coloration  
10 bleue du milieu a disparu, 1,3 g de sodium métallique sont ajoutés en 45 minutes. Le mélange est agité à -33°C pendant 30 minutes, puis une solution de 4,8 g de cyclosporine A dans 120 cm<sup>3</sup> de tétrahydrofurane est ajoutée goutte à goutte en approximativement 30 minutes. Le mélange est agité 30 minutes à une température voisine de -33°C puis une solution de 30,56 g de disulfure de [2-(*t*-  
15 butyldiméthylsililoxy)éthyle] dans 30 cm<sup>3</sup> de tétrahydrofurane est ajoutée en 20 minutes. Le mélange réactionnel est agité à une température voisine de -33°C durant 2 heures, puis 4 g de chlorure d'ammonium solide sont ajoutés par portions. Sous agitation, on laisse s'évaporer l'ammoniac en faisant passer la température du mélange de -33°C à 25°C en 19 heures. Le mélange est dilué par 120 cm<sup>3</sup> d'eau  
20 distillée puis 120 cm<sup>3</sup> d'éther de diéthyle. La phase organique est décantée, et la phase aqueuse est extraite par 240 cm<sup>3</sup> au total d'éther de diéthyle. Les phases organiques réunies sont lavées par 240 cm<sup>3</sup> au total d'eau distillée, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées puis concentrées à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le solide résiduel (28,47 g) est purifié par  
25 chromatographie sur une colonne de silice (0,020-0,045 mm; éluant : acétate d'éthyle/méthanol 4:1 en volumes) et en recueillant des fractions de 100 cm<sup>3</sup>. Les fractions contenant le produit attendu (fractions 58 à 95) sont réunies et concentrées à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C pour donner

1,44 g d'une meringue. Une aliquote de 0,2 g de cette meringue est traitée par 2 cm<sup>3</sup> d'éther de diéthyle durant 12 heures. Après séchage sous pression réduite (3 kPa) à une température voisine de 20°C, on obtient 0,13 g de [(R)-2-(*t*-butyldiméthylsililoxy)éthylthio-Sar]<sup>3</sup> cyclosporine A sous la forme d'un solide beige fondant à une température voisine de 125°C qui sont engagés dans l'étape suivante.

5 A une solution de 1,02 g de [(R)-2-(*t*-butyldiméthylsililoxy)éthylthio-Sar]<sup>3</sup> cyclosporine A dans 50 cm<sup>3</sup> de tétrahydrofurane on ajoute 3,7 cm<sup>3</sup> d'une solution 1 M de fluorure de tétrabutylammonium dans le tétrahydrofurane. Le mélange est agité durant 4 heures à une température voisine de 20°C, puis 50 cm<sup>3</sup> d'eau distillée

10 sont ajoutés au mélange. Le tétrahydrofurane est évaporé sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu est traité par 50 cm<sup>3</sup> d'acétate d'éthyle. La phase organique est décantée et la phase aqueuse est extraite par 100 cm<sup>3</sup> au total d'acétate d'éthyle. Les phases organiques réunies sont lavées par 100 cm<sup>3</sup> au total d'eau distillée, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées puis concentrées à sec

15 sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le solide résiduel (0,88 g) est purifié par chromatographie sur une colonne de silice (0,020-0,045 mm; éluant : acétate d'éthyle) en recueillant des fractions de 15 cm<sup>3</sup>. Les fractions contenant le produit attendu (fractions 62 à 140) sont réunies et concentrées à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le solide résiduel

20 (0,82 g) est purifié par chromatographie sur une colonne d'alumine neutre (éluant : acétate d'éthyle/cyclohexane 4:1 en volumes) en recueillant des fractions de 5 cm<sup>3</sup>. Les fractions contenant le produit attendu (fractions 18 à 288) sont réunies et concentrées à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le solide résiduel (0,66 g) est traité par 50 cm<sup>3</sup> d'acétate d'éthyle, la solution est

25 filtrée puis évaporée sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le solide résiduel est trituré avec 50 cm<sup>3</sup> d'éther de diéthyle, puis filtré et séché sous pression réduite (3 kPa) à une température voisine de 45°C pour donner 0,65 g de [(R)-2-(hydroxy)éthylthio-Sar]<sup>3</sup> cyclosporine A sous la forme d'un solide blanc fondant à une température voisine de 139°C.

Spectre de R.M.N.  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  en ppm) : 1,26 (d,  $J = 7,5$  Hz, 3H :  $\text{CH}_3$ , 8 $\beta$ ) ; 1,36 (d,  $J = 7,5$  Hz, 3H :  $\text{CH}_3$ , 7 $\beta$ ) ; 1,64 (d,  $J = 5$  Hz, 3H :  $\text{CH}_3$ , 1 $\eta$ ) ; 2,70 - 3,13 - 3,14 - 3,27 - 3,47 et 3,51 (6 s, respectivement 6H - 3H - 3H - 3H - 3H - 3H : les 7 N $\text{CH}_3$ ) ; 2,81 (t,  $J = 6$  Hz, 2H : SCH $_2$ ) ; 3,78 (mt, 1H : CH 1 $\beta$ ) ; 3,86 (mt, 2H : CH $_2$ O) ; 4,54 (mt, 1H : CH 7 $\alpha$ ) ; 4,66 (t large,  $J = 9$  Hz, 1H : CH 5 $\alpha$ ) ; 4,84 (mt, 1H : CH 8 $\alpha$ ) ; 4,99 (dd,  $J = 9$  et 6 Hz, 1H : CH  $\alpha$  d'une leucine) ; de 5,00 à 5,10 (mt, 2H : CH  $\alpha$  d'une leucine et CH 2 $\alpha$ ) ; 5,13 (d,  $J = 11$  Hz, 1H : CH 11 $\alpha$ ) ; 5,24 (dd,  $J = 11$  et 4 Hz, 1H : CH  $\alpha$  d'une leucine) ; 5,33 (mt, 2H : CH=CH) ; 5,48 (d,  $J = 6$  Hz, 1H : CH 1 $\alpha$ ) ; 5,71 (dd,  $J = 10,5$  et 4 Hz, 1H : CH  $\alpha$  d'une leucine) ; 5,97 (s, 1H : CH 3 $\alpha$ ) ; 7,18 (d,  $J = 8$  Hz, 1H : CONH en 8) ; 7,30 (d,  $J = 9$  Hz, 1H : CONH en 5) ; 7,68 (d,  $J = 8$  Hz, 1H : CONH en 7) ; 7,98 (d,  $J = 10$  Hz, 1H : CONH en 2).

Le disulfure de [2-(*t*-butyldiméthylsililoxy)éthyle] peut être préparé selon la méthode suivante :

A une solution de 15 cm $^3$  de disulfure de di-2-(hydroxy)éthyle dans 20 cm $^3$  de diméthylformamide refroidie à une température voisine de 0°C on ajoute goutte à goutte 38,64 g d'imidazole en solution dans 20 cm $^3$  de diméthylformamide. Le mélange est agité durant 30 minutes à 0°C, puis une suspension de 93 g de *t*-butyldiméthylchlorosilane dans 200 cm $^3$  de diméthylformamide est ajouté en maintenant la température voisine de 0°C. Le mélange est agité 30 minutes à une température voisine de 0°C puis le mélange est réchauffé à une température voisine de 25°C en 12 heures. Le mélange est concentré sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 65°C. L'huile résiduelle est reprise par 100 cm $^3$  de dichlorométhane et 100 cm $^3$  d'eau distillée. La phase organique est décantée et la phase aqueuse est extraite par 300 cm $^3$  au total de de dichlorométhane. Les phases organiques sont réunies, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées puis concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 45 °C. Après élimination des composés volatils par distillation sous pression réduite (20 kPa) jusqu'à une température voisine de 200°C, 41 g de disulfure de [2-(*t*-butyldiméthyl-

sililoxy)éthyle] sont obtenus sous la forme d'une huile jaune utilisée dans l'étape précédente sans autre purification.

### Exemple 2

Le sel de méthanesulfonate de la [(R)-2-(N,N-diméthylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>  
5 cyclosporine A peut être préparée selon la méthode suivante :  
A 500 cm<sup>3</sup> d'ammoniac maintenus à une température voisine de -33°C, on ajoute  
100 mg de sodium métallique puis 100 mg de nitrate ferrique. Dès que la coloration  
bleue du milieu a disparu, 7,05 g de sodium métallique sont ajoutés en 45 minutes. Le  
mélange est agité à -33°C pendant 20 minutes, puis une solution de 25 g de  
10 cyclosporine A dans 500 cm<sup>3</sup> de tétrahydrofurane est ajoutée goutte à goutte en  
approximativement 40 minutes. Le mélange est agité 1 heure à une température  
voisine de -33°C puis 85 g de disulfure de [2-(N,N-diméthylamino)éthyle] sont  
ajoutés en 15 minutes. Le mélange réactionnel est agité à une température voisine de  
-33°C durant 2 heures, puis 78 g de chlorure d'ammonium solide sont ajoutés par  
15 portions en 15 minutes. Sous agitation, on laisse évaporer l'ammoniac en faisant  
passer la température du milieu de -33°C à 25°C en 12 heures. Le mélange est filtré,  
le solide est rincé par de l'éther de diéthyle. Les phases organiques réunies sont  
concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 35°C. Le  
résidu huileux orange obtenu (108 g) est traité par 4 litres d'eau distillée, 200 cm<sup>3</sup>  
20 d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 5N et 600 cm<sup>3</sup> d'éther de diéthyle. La  
phase organique est décantée. La phase aqueuse est extraite par 1 litre au total d'éther  
de diéthyle puis neutralisée par ajout de bicarbonate de sodium solide jusqu'à  
saturation. Un litre d'éther de diéthyle est ajouté à la phase aqueuse neutralisée. La  
phase organique est décantée, et la phase aqueuse est extraite par 1 litre au total  
25 d'éther de diéthyle. Les phases organiques réunies sont lavées par 500 cm<sup>3</sup> au total  
d'une solution saturée en chlorure de sodium, séchée sur sulfate de sodium, filtrées  
puis évaporées à sec sous pression réduite (2,7 kPa), à une température voisine de  
35°C pour conduire à 20,9 g de [(R)-2-(N,N-diméthylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>  
cyclosporine A brute sous la forme d'une meringue orange. Une aliquote de 3 g de la

- [(R)-2-(N,N-diméthylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup> cyclosporine A brute est purifiée par chromatographie sur une colonne d'alumine neutre (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle 1:4 en volume) et en recueillant des fractions de 80 cm<sup>3</sup>. Les fractions contenant le produit attendu (fractions 3 à 12) sont réunies et concentrées à sec sous
- 5 pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 35°C pour donner 1,78 g d'une meringue crème qui est mise en solution dans 9 cm<sup>3</sup> d'éther de diéyle. A cette solution sont ajoutés 6,8 cm<sup>3</sup> d'une solution 0,2 N d'acide méthanesulfonique dans l'éther de diéyle. Après une heure d'agitation à une température voisine de 20°C, le mélange est filtré. Le solide est rincé par 3 fois 1,8 cm<sup>3</sup> d'éther de diéyle.
- 10 Après séchage du solide à poids constant sous pression de 5 kPa à une température voisine de 30°C durant 24 heures, on obtient 1,45 g de sel de méthanesulfonate de la [(R)-2-(N,N-diméthylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup> cyclosporine A sous la forme d'un solide beige fondant à une température voisine de 155°C.

- Spectre de R.M.N. <sup>1</sup>H (400 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO d<sub>6</sub>, δ en ppm) : 1,21 (d, J = 7,5 Hz, 3H : CH<sub>3</sub> 8β) ; 1,29 (d, J = 7,5 Hz, 3H : CH<sub>3</sub> 7β) ; 1,69 (d, J = 6,5 Hz, 3H : CH<sub>3</sub> 1η) ; 1,99 (mt, 1H : CH 5β) ; 2,35 (s, 3H : CH<sub>3</sub> du méthanesulfonate) ; de 2,45 à 2,70 (mt, 2H : SCH<sub>2</sub> du 2-diméthyl aminoéthylthio en 3α) ; 2,64 - 2,80 - 2,86 - 2,93 - 2,99 et 3,17 (6 s, respectivement 3H - 6H - 9H - 3H - 3H et 3H : 7 NCH<sub>3</sub> et NCH<sub>3</sub> du 2-diméthyl aminoéthylthio en 3α) ; de 3,25 à 3,40 (mt, 2H : CH<sub>2</sub>N du 2-diméthyl aminoéthylthio en 3α) ; 3,99 (mt, 1H : CH 1β) ; 4,15 (mt, 1H : CH 7α) ; 4,26 (t, J = 9 Hz, 1H : CH 5α) ; 4,42 (s large, 1H : OH en 1β) ; 4,79 (mt, 1H : CH 8α) ; 4,89 (mt, 1H : CH 2α) ; de 5,00 à 5,15 (mt, 1H : CH α d'une leucine) ; 5,11 (d, J = 11 Hz, 1H : CH 11α) ; 5,23 (mt, 2H : CH 1α et CH α d'une leucine) ; 5,33 (dd, J = 10 et 5 Hz, 1H : CH α d'une leucine) ; de 5,30 à 5,50 et 5,62 (2 mts, 1H chacun : CH=CH) ; 5,48 (dd, J = 11 et 5 Hz, 1H : CH α d'une leucine) ; 6,87 (s, 1H : CH 3α) ; 7,64 (d, J = 7,5 Hz, 1H : CONH en 7) ; 8,24 (d, J = 9,5 Hz, 1H : CONH en 2) ; 8,28 (d, J = 8 Hz, 1H : CONH en 8) ; 8,68 (d, J = 9 Hz, 1H : CONH en 5) ; 9,28 (mf, 1H : SO<sub>3</sub>H du méthanesulfonate)
- 15
- 20
- 25

### Exemple 3

La [(R)-2-(1-imidazolyl)éthylthio-Sar]<sup>3</sup> cyclosporine A est préparée selon la méthode suivante :

- A 80 cm<sup>3</sup> d'ammoniac maintenus à une température voisine de -33°C, on ajoute 100 mg de sodium métallique puis 100 mg de nitrate ferrique. Dès que la coloration bleue du milieu a disparu, 0,82 g de sodium métallique sont ajoutés en 15 minutes. Le mélange est agité à -33°C pendant 15 minutes, puis une solution de 2,4 g de cyclosporine A dans 10 cm<sup>3</sup> de tétrahydrofurane est ajoutée goutte à goutte en approximativement 15 minutes, et 5 g de disulfure de di-[2-(1-imidazolyl)éthyle] solide sont ajoutés par portions en 15 minutes. Le mélange réactionnel est agité à une température voisine de -33°C durant 3 heures, puis 3,4 g de chlorure d'ammonium solide sont ajoutés par portions. Sous agitation, on laisse évaporer l'ammoniac en faisant passer la température du mélange de -33°C à 25°C en 12 heures. Le mélange est dilué par 100 cm<sup>3</sup> d'eau distillée. La phase organique est décantée, et la phase aqueuse est lavée par 3 fois 50 cm<sup>3</sup> d'acétate d'éthyle. Les phases organiques réunies sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées, puis concentrées à sec sous pression réduite (2,7 kPa), à une température voisine de 40°C. La meringue beige ainsi obtenue (2,25 g) est purifiée par chromatographie sur une colonne de silice (0,020-0,045 mm; éluant : acétate d'éthyle/méthanol 19:1 en volumes) et en recueillant des fractions de 20 cm<sup>3</sup>. Les fractions contenant le produit attendu sont concentrées à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C pour donner 0,520 g d'un solide. Ce solide, trituré avec 50 cm<sup>3</sup> de pentane, donne, après filtration et séchage à une température voisine de 40°C, 0,420 g d'un solide qui est purifié par chromatographie sur une seconde colonne de silice (0,020-0,045 mm ; éluant : acétate d'éthyle/méthanol 4:1 en volumes). Les fractions contenant le produit attendu sont concentrées à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le solide résiduel est trituré avec 10 cm<sup>3</sup> de pentane pour donner après filtration est séchage à une température voisine de 40°C 0,245 g de [(R)-2-(1-imidazolyl)-éthylthio-Sar]<sup>3</sup> cyclosporine A sous la forme d'un solide jaune fondant vers 208°C.



Spectre de R.M.N.  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , à une température de 333 K,  $\delta$  en ppm) :  
1,26 (d,  $J = 7.5$  Hz, 3H :  $\text{CH}_3$  8 $\beta$ ) ; 1,36 (d,  $J = 7.5$  Hz, 3H :  $\text{CH}_3$  7 $\beta$ ) ; 1,63 (d,  $J =$   
5 Hz, 3H :  $\text{CH}_3$  1 $\eta$ ) ; 2,72 - 3,07 - 3,15 - 3,25 - 3,40 et 3,50 (6 s, respectivement 6H -  
3H - 3H - 3H - 3H - 3H : les 7  $\text{NCH}_3$ ) ; de 3,80 à 3,95 (mt, 2H : CH 1 $\beta$  et OH en 1 $\beta$ ) ;  
5 4,16 (mt, 2H :  $\text{NCH}_2$ ) ; 4,51 (mt, 1H : CH 7 $\alpha$ ) ; 4,71 (t large,  $J = 9$  Hz, 1H : CH 5 $\alpha$ ) ;  
4,86 (mt, 1H : CH 8 $\alpha$ ) ; de 4,95 à 5,10 (mt, 3H : CH  $\alpha$  de deux leucines et CH 2 $\alpha$ ) ;  
5,17 (d,  $J = 11$  Hz, 1H : CH 11 $\alpha$ ) ; 5,22 (dd,  $J = 11,5$  et 4 Hz, 1H : CH  $\alpha$  d'une  
leucine) ; 5,35 (mt, 2H :  $\text{CH}=\text{CH}$ ) ; 5,42 (d,  $J = 6$  Hz, 1H : CH 1 $\alpha$ ) ; 5,72 (dd,  $J = 10,5$   
et 4 Hz, 1H : CH  $\alpha$  d'une leucine) ; 5,82 (s, 1H : CH 3 $\alpha$ ) ; 6,93 - 7,10 et 7,54 (3 s  
10 larges, 1H chacun : H aromatiques de l'imidazole) ; 7,12 (d,  $J = 8$  Hz, 1H : CONH en  
8) ; 7,19 (d,  $J = 9$  Hz, 1H : CONH en 5) ; 7,53 (mt, 1H : CONH en 7) ; 7,87 (d,  
 $J = 10$  Hz, 1H : CONH en 2).

Le disulfure de di-[2-(1-imidazolyl)éthyle] peut être préparé de la manière suivante :  
A une solution de 15 g de 2-(1-imidazolyl)-éthanethiol dans 200  $\text{cm}^3$  de  
15 dichlorométhane refroidie à 0°C, on ajoute goutte à goutte en 10 minutes, 32,3  $\text{cm}^3$  de  
triéthylamine puis une solution de 14,59 g d'iode dans 68  $\text{cm}^3$  d'éther de diéthyle. Le  
mélange est agité durant 30 minutes, à une température voisine de 20°C puis  
concentré à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le  
résidu pâteux obtenu est trituré en présence de 50  $\text{cm}^3$  d'isopropanol. Le solide formé  
20 est filtré et rincé avec 25  $\text{cm}^3$  au total d'isopropanol pour donner un premier jet de  
disulfure de di-[2-(1-imidazolyl)éthyle]. Les phases organiques réunies sont  
concentrées à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C.  
Le résidu pâteux est trituré en présence de 50  $\text{cm}^3$  d'acétate d'éthyle. Le solide formé  
est filtré pour donner un second jet de disulfure de di-[2-(1-imidazolyl)éthyle]. Les  
25 deux jets de disulfure de di-[2-(1-imidazolyl)éthyle] sont réunis et séchés sous vide  
(10 kPa) à une température voisine de 20°C pour conduire à 14,2 g de disulfure de  
di-[2-(1-imidazolyl)éthyle].

Le 2-(1-imidazolyl)-éthanethiol peut être préparé de la manière suivante :

Une solution de 28,34 g de chlorhydrate de 2-(1-imidazolyl)éthylisothiourée et de 18,56 g d'hydroxyde de sodium dans 300 cm<sup>3</sup> d'eau distillée est chauffée à reflux durant 150 minutes. Après avoir ramené le mélange à une température voisine de 20°C, ce dernier est acidifié par ajout d'acide chlorhydrique concentré (20 cm<sup>3</sup>) puis amené à pH = 7 par ajout d'une solution saturée de bicarbonate de sodium. Le mélange est extrait par 600 cm<sup>3</sup> au total d'acétate d'éthyle. Les phases organiques réunies sont lavées par 100 cm<sup>3</sup> au total d'eau distillée, filtrées, séchées sur sulfate de magnésium puis concentrées à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C pour conduire à 15,0 g de 2-(1-imidazolyl)-éthanethiol sous la forme d'une huile jaune.

Le chlorhydrate de 2-(1-imidazolyl)éthylisothiourée peut être préparé de la manière suivante :

A une solution de 30 g de 2-hydroxy-(1-imidazolyl)-éthane dans 300 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane on ajoute goutte à goutte en 30 minutes 44,2 cm<sup>3</sup> de chlorure de thionyle puis on porte le mélange à une température voisine du reflux durant 16 heures. Le mélange est évaporé à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le résidu pâteux est traité par 100 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane puis concentré sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Cette étape est répétée deux fois. Une suspension de 34,9 g de chlorhydrate de 2-chloro-(1-imidazolyl)-éthane brut ainsi obtenu et 15,93 g de thiourée dans 125 cm<sup>3</sup> de diméthylformamide est chauffée à une température voisine de 110°C durant 90 minutes. Le mélange est refroidi à une température voisine de 20°C. Le solide jaune formé est ensuite filtré, rincé avec 100 cm<sup>3</sup> au total d'éther de diéthyle et séché sous vide (10 kPa) à une température voisine de 40°C pour conduire à 28,34 g de chlorhydrate de 2-(1-imidazolyl)éthylisothiourée sous la forme d'un solide fondant à une température voisine de 206°C.

Le 2-hydroxy-(1-imidazolyl)-éthane peut être préparé de la manière suivante :

A une suspension de 30 g d'hydrure de sodium (à 50 % dans l'huile minérale) dans 250 cm<sup>3</sup> de diméthylformamide on ajoute en 30 minutes une solution de 68 g

d'imidazole de 250 cm<sup>3</sup> de diméthylformamide. Le mélange est agité 90 minutes à une température voisine de 20°C, puis une solution de 50,5 g de 2-chloroéthanol dans 50 cm<sup>3</sup> de diméthylformamide est ajoutée en une heure. Le mélange est agité 12 heures à une température voisine de 20°C puis filtré. Le filtrat est traité par 5 100 cm<sup>3</sup> d'eau distillée puis concentré sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 55°C. Le résidu pâteux est repris par 150 cm<sup>3</sup> d'éther de pétrole, la phase liquide est décantée, et le résidu est trituré durant une heure avec 100 cm<sup>3</sup> d'isopropanol. Le précipité formé est filtré, et le filtrat est concentré sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. L'huile résiduelle 10 (113,1 g) est distillée sous pression réduite (5 kPa) pour conduire à 105,7 g de 2-hydroxy-(1-imidazolyl)-éthane sous la forme d'une huile jaune distillant à une température de 180-183°C sous 5 kPa.

#### Exemple 4

La [(R)-2-(N-méthyl-N-*iso*-propylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup> cyclosporine A est préparée 15 selon la méthode suivante :

A 100 cm<sup>3</sup> d'ammoniac maintenus à une température voisine de -33°C, on ajoute 100 mg de sodium métallique puis 100 mg de nitrate ferrique. Dès que la coloration bleue du milieu a disparu, 1,1 g de sodium métallique sont ajoutés en 15 minutes. Le mélange est agité à -33°C pendant 2 heures, une solution de 3,6 g de cyclosporine A 20 dans 60 cm<sup>3</sup> de tétrahydrofurane est ajoutée goutte à goutte en approximativement 20 minutes puis une solution de 3,1 g de disulfure de di-[2-(N-méthyl-N-*iso*-propylamino)éthyle] dans 15 cm<sup>3</sup> de tétrahydrofurane est ajoutée en 15 minutes. Le mélange réactionnel est agité à une température voisine de -33°C durant 1 heure, puis 3 g de chlorure d'ammonium solide sont ajoutés par portions. Sous agitation, on 25 laisse évaporer l'ammoniac en faisant passer la température du mélange de -33°C à 25°C en 12 heures. Le mélange est dilué par 100 cm<sup>3</sup> d'éther diéthylique puis filtré. Le solide est rincé avec 100 cm<sup>3</sup> au total d'éther diéthylique. Les phases organiques réunies sont concentrées à sec sous pression réduite (2,7 kPa), à une température

voisine de 40°C. Le solide obtenu (6,3 g) est purifié par chromatographie sur une colonne de silice (0,020-0,045 mm; éluant : acétate d'éthyle/méthanol 4:1 en volumes) en recueillant des fractions de 50 cm<sup>3</sup>. Les fractions contenant le produit attendu (fractions 32 à 48) sont réunies et concentrées à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C pour donner 0,640 g d'une laque incolore qui, traitée par 30 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, donne après filtration et séchage à une température voisine de 40°C 0,390 g de [(R)-2-(N-méthyl-N-*iso*-propylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup> cyclosporine A sous la forme d'un solide blanc cassé fondant vers 70°C.

- 10 Spectre de R.M.N. <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, , δ en ppm) : 1,26 (d, J = 7,5 Hz, 3H : CH<sub>3</sub> 8β) ; 1,37 (d, J = 7,5 Hz, 3H : CH<sub>3</sub> 7β) ; 2,18 (s, 3H : NCH<sub>3</sub> du 2 N-méthyl N-*iso*-propylaminoéthylthio en 3α) ; de 2,55 à 2,75 (mt : les 4H correspondant au SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N du 2 N-méthyl N-*iso*-propyl aminoéthylthio en 3α) ; 2,71 - 2,72 - 3,12 - 3,14 - 3,27 - 3,45 et 3,51 (7 s, 3H chacun : les 7 NCH<sub>3</sub>) ; 2,83 (mt, 1H : NCH du 2 N-méthyl N- *iso*-propyl aminoéthylthio en 3α) ; 3,65 (d, J = 6 Hz, 1H : OH en 1β) ; 3,77 (mt, 1H : CH 1β) ; 4,54 (mt, 1H : CH 7α) ; 4,65 (t large, J = 9 Hz, 1H : CH 5α) ; 4,84 (mt, 1H : CH 8α) ; 4,97 (dd, J = 10,5 et 6 Hz, 1H : CH α d'une leucine) ; de 5,00 à 5,10 (mt, 2H : CH α d'une leucine et CH 2α) ; 5,13 (d, J = 11 Hz, 1H : CH 11α) ; 5,24 (dd, J = 11,5 et 4 Hz, 1H : CH α d'une leucine) ; 5,33 (mt, 2H : CH=CH) ; 5,50 (d, J = 6 Hz, 1H : CH 1α) ; 5,71 (dd, J = 10,5 et 4 Hz, 1H : CH α d'une leucine) ; 5,97 (s, 1H : CH 3α) ; 7,17 (d, J = 8 Hz, 1H : CONH en 8) ; 7,34 (d, J = 9 Hz, 1H : CONH en 5) ; 7,66 (d, J = 8 Hz, 1H : CONH en 7) ; 7,95 (d, J = 10 Hz, 1H : CONH en 2).

25 Le disulfure de di[2-(N-méthyl-N-*iso*-propylamino)éthyle peut être préparé de la manière suivante :

A une solution de 20 g de 2-(N-*iso*-propyle-N-méthylamino)-éthanethiol dans 150 cm<sup>3</sup> d'éther de diéthyle, on ajoute 60 cm<sup>3</sup> d'une solution aqueuse 5 N d'hydroxyde de sodium puis on fait passer un courant d'air durant 12 heures à une température voisine de 20°C. Le mélange est extrait au moyen de 150 cm<sup>3</sup> au total

d'éther de diéthylique. Les phases organiques réunies sont lavées par 100 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, séchées sur sulfate de magnésium puis concentrées à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. pour conduire à 11,1 g de disulfure de di-[2-(N-méthyl-N-*iso*-propylamino)éthyle] sous la forme d'une huile incolore.

Le 2-(N-*iso*-propyle-N-méthylamino)-éthanethiol est préparé selon la méthode suivante :

Une solution de 115 cm<sup>3</sup> de N-*iso*-propyl-N-méthylamine et de 44 cm<sup>3</sup> d'épisulfure d'éthylène dans 400 cm<sup>3</sup> d'éther diéthylique est chauffée à une température voisine du reflux durant 36 heures. Une distillation fractionnée sous pression réduite (2,5 kPa) du mélange réactionnel conduit à 43 g de 2-(N-*iso*-propyl-N-méthylamino)-éthanethiol sous la forme d'une huile incolore bouillant vers 60°C sous 2,5 kPa.

#### Exemple 5

La [(R)-2-(N-benzyl-N-méthyl)éthylthio-Sar]<sup>3</sup> cyclosporine A est préparée selon la méthode suivante :

A 100 cm<sup>3</sup> d'ammoniac maintenus à une température voisine de -33°C, on ajoute 100 mg de sodium métallique puis 100 mg de nitrate ferrique. Dès que la coloration bleue du mélange a disparu, 1,0 g de sodium métallique est ajouté en 30 minutes. Le mélange est agité à -33°C pendant 1 heure, puis une solution de 3,6 g de cyclosporine A dans 60 cm<sup>3</sup> de tétrahydrofuranne est ajoutée goutte à goutte en approximativement 15 minutes. Le mélange est agité 15 minutes à une température voisine de -33°C puis une solution de 4,4 g de N,N'-dibenzyl-N,N'-diméthylcystamine dans 15 cm<sup>3</sup> de tétrahydrofuranne sont ajoutés en 15 minutes. Le mélange réactionnel est agité à une température voisine de -33°C durant 1 heure, puis 3 g de chlorure d'ammonium solide sont ajoutés par portions. Sous agitation, on laisse évaporer l'ammoniac en faisant passer la température du milieu de -33°C à 25°C en 12 heures. Le mélange est filtré puis rincé avec 300 cm<sup>3</sup> au total d'éther diéthylique. Les phases organiques réunies sont concentrées à sec sous pression réduite (2,7 kPa), à une température

voisine de 40°C. Le solide obtenu est trituré avec 250 cm<sup>3</sup> au total de pentane, puis filtré. Le solide résiduel (6,2 g) est purifié par chromatographie sur une colonne de silice (0,020-0,045 mm; éluant : acétate d'éthyle pur pour les fractions de 1 à 4, acétate d'éthyle/méthanol 9:1 en volume pour les fractions de 5 à 80 et acétate d'éthyle/méthanol 8:2 en volume pour les fractions 81 à 100) et en recueillant des fractions de 100 cm<sup>3</sup>. Les fractions contenant le produit attendu (fractions 8 à 25) sont réunies et concentrées à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C pour donner 3,5 g d'une meringue jaune pâle qui est purifiée par chromatographie sur colonne de silice (0,020-0,045 mm; éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle 1:1 en volume pour les fractions de 1 à 50, et cyclohexane/acétate d'éthyle 3:7 en volume pour les fractions de 51 à 120) en recueillant des fractions de 100 cm<sup>3</sup>. Les fractions contenant le produit attendu (fractions 71 à 90) sont réunies et concentrées à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C pour donner 2,3 g d'une huile incolore qui est mise en solution dans 150 cm<sup>3</sup> d'éther de diéthylique. La solution est traitée avec 150 cm<sup>3</sup> au total d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 1 N. Le précipité formé est filtré, puis mis en solution dans 200 cm<sup>3</sup> d'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium puis concentrée à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le solide résiduel est trituré avec 50 cm<sup>3</sup> de pentane. Le pentane est décanté, puis le solide est agité 12 heures à une température voisine de 20°C avec 50 cm<sup>3</sup> d'éther diéthylique. Le solide est filtré puis rincé avec 75 cm<sup>3</sup> au total d'éther de diéthylique. Le solide est séché durant 12 heures, sous pression réduite (3 kPa) à une température voisine de 45°C pour conduire à 1 g de [(R)-2-(N-benzyl-N-méthyl)éthylthio-Sar]<sup>3</sup> cyclosporine A sous la forme d'un solide blanc fondant à une température voisine de 170°C.

Spectre de R.M.N. <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, à une température de 333 K, δ en ppm) : 1,28 (d, J = 7,5 Hz, 3H : CH<sub>3</sub> 8β) ; 1,38 (d, J = 7,5 Hz, 3H : CH<sub>3</sub> 7β) ; 1,64 (d, J = 5 Hz, 3H : CH<sub>3</sub> 1η) ; 2,61 (s large, 3H : NCH<sub>3</sub> du 2 N-méthyl N-benzyl aminoéthylthio en 3α) ; de 2,90 à 3,20 (mt : les 4H correspondant au SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N du 2

- N-méthyl N-benzyl aminoéthylthio en  $3\alpha$ ) ; 2,73 - 2,74 - 3,09 - 3,15 - 3,26 - 3,42 et 3,52 (7 s, 3H chacun : les 7  $\text{NCH}_3$ ) ; 3,87 (mt, 1H : CH  $1\beta$ ) ; de 3,90 à 4,20 (mf étalé, 2H :  $\text{NCH}_2\text{Ar}$ ) ; 4,53 (mt, 1H : CH  $7\alpha$ ) ; 4,72 (t large,  $J = 9$  Hz, 1H : CH  $5\alpha$ ) ; 4,88 (mt, 1H : CH  $8\alpha$ ) ; de 4,95 à 5,15 (mt, 3H : CH  $\alpha$  de deux leucines et CH  $2\alpha$ ) ; 5,17 (d,  $J = 11$  Hz, 1H : CH  $11\alpha$ ) ; 5,22 (dd,  $J = 11$  et 4 Hz, 1H : CH  $\alpha$  d'une leucine) ; 5,35 (mt, 2H :  $\text{CH}=\text{CH}$ ) ; 5,45 (d,  $J = 6$  Hz, 1H : CH  $1\alpha$ ) ; 5,74 (dd,  $J = 10,5$  et 4 Hz, 1H : CH  $\alpha$  d'une leucine) ; 5,82 (s, 1H : CH  $3\alpha$ ) ; 7,14 (d,  $J = 8$  Hz, 1H : CONH en 8) ; 7,31 (d,  $J = 9$  Hz, 1H : CONH en 5) ; de 7,35 à 7,65 (mt, 6H : H aromatiques du benzyle et CONH en 7) ; 7,90 (d,  $J = 10$  Hz, 1H : CONH en 2).
- 10 La N,N'-dibenzyl-N,N'-diméthylcystamine est préparée de la manière suivante :  
Dans une solution de 18,5 g de 2-(N-benzyl-N-méthylamino)-éthanethiol dans 100  $\text{cm}^3$  de méthanol, et de 40  $\text{cm}^3$  d'une solution aqueuse 5 N d'hydroxyde de sodium, on fait passer un courant d'air durant 24 heures à une température voisine de 20°C. Le méthanol est éliminé sous pression réduite (2,7 kPa). Le résidu est repris  
15 avec 100  $\text{cm}^3$  d'eau distillée. Le mélange est extrait avec 750  $\text{cm}^3$  au total d'éther de diéthyle. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium puis concentrée sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C pour conduire à 17,6 g de N,N'-di-benzyl-N,N'-diméthylcystamine sous la forme d'une huile jaune utilisée sans autre purification.
- 20 Le 2-(N-benzyl-N-méthylamino)-éthanethiol est préparé selon la méthode suivante :  
Une solution de 142  $\text{cm}^3$  de N-benzyl-N-méthylamine et de 44  $\text{cm}^3$  d'épisulfure éthylène dans 400  $\text{cm}^3$  d'éther diéthylique est agitée durant 144 heures à une température voisine de 45°C. Une distillation fractionnée sous pression réduite (20 kPa) du mélange conduit à 105 g de 2-(N-benzyl-N-méthylamino)-éthanethiol  
25 sous la forme d'une huile incolore bouillant entre 124 et 127°C sous 20 kPa.

### Exemple 6

La [(R)-méthylthio-Sar]<sup>3</sup> [4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup> cyclosporine A est préparée selon la méthode suivante :

Dans un réacteur contenant 12,55 g d'amidure de sodium et maintenu à une température voisine de -33°C, on introduit 500 cm<sup>3</sup> d'ammoniac liquide, puis une solution de 25 g de [4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup> cyclosporine A dans 600 cm<sup>3</sup> de tétrahydrofuranne est ajoutée goutte à goutte et sous agitation en approximativement 10 minutes. Le mélange est agité durant 45 minutes à une température voisine de -33°C puis 38,5 g de disulfure de diméthyle sont ajoutés en approximativement 5 minutes. Le mélange réactionnel est agité à une température voisine de -33°C durant 20 minutes, puis 21,4 g de chlorure d'ammonium solide sont ajoutés progressivement. Après 10 minutes d'agitation, on laisse évaporer l'ammoniac en faisant passer la température du mélange de -33°C à 25°C en 150 minutes. Le mélange réactionnel est filtré. Le solide est lavé avec 150 cm<sup>3</sup> au total de tétrahydrofuranne. Les phases organiques réunies sont concentrées à sec sous pression réduite (2,7 kPa), à une température voisine de 40°C. Le résidu (30,95 g) est purifié par chromatographie sur colonne de silice (0,063-0,200 mm ; éluant : dichlorométhane/acétonitrile/isopropanol 79:15:6 en volume). Les fractions contenant le produit attendu sont concentrées à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C pour donner un résidu 4,4 g. Un deuxième essai est réuni avec le premier, et on purifie une seconde fois par chromatographie sur colonne de silice (0,010 mm; éluant : acétate d'éthyle). Les fractions contenant le produit attendu sont concentrées à sec. Le solide obtenu est repris deux fois dans l'éther isopropylique puis séché sous vide à une température voisine de 40°C. On obtient 4,45 g de [(R)-méthylthio-Sar]<sup>3</sup>[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup> cyclosporine A sous la forme d'un solide blanc cassé fondant vers 160°C.

Spectre de R.M.N. <sup>1</sup>H : (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ en ppm) : 1,27 (d, J = 7 Hz, 3H : CH<sub>3</sub> 8β) ; 1,37 (d, J = 7,5 Hz, 3H : CH<sub>3</sub> 7β) ; 1,64 (d, J = 5 Hz, 3H : CH<sub>3</sub> en 1η) ; de 1.65 à 1.80 et 2,41 (respectivement mt et dd, J = 15 et 6,5 Hz, 1H chacun : CH<sub>2</sub> 4β) ; 2,17 (s, 3H : SCH<sub>3</sub>) ; 2,47 (mt, 1H : CH 5β) ; 2,71 - 3,13 - 3,18 - 3,27 - 3,46 et 3.52 (6 s,



respectivement 6H - 3H - 3H - 3H - 3H et 3H : 7 NCH<sub>3</sub>) ; 3,70 (d, J = 6,5 Hz, 1H : OH en 1β) ; 3,78 (mt, 1H : CH 1β) ; 4,56 (mt, 1H : CH 7α) ; 4,67 (t, J = 9 Hz, 1H : CH 5α) ; 4,86 (mt, 1H : CH 8α) ; 5,00 (dd, J = 9 et 6 Hz, 1H : CH α d'une leucine) ; de 5,05 à 5,15 (mt, 2H : CH 2α et CH α d'une leucine) ; 5,15 (d, J = 11 Hz, 1H : CH 11α) ; de 5,25 à 5,40 (mt, 2H : CH=CH) ; 5,45 (t, J = 6,5 Hz, 1H : CH 4α) ; 5,52 (d, J = 6 Hz, 1H : CH 1α) ; 5,72 (dd, J = 10,5 et 4 Hz, 1H : CH α d'une leucine) ; 5,75 (s, 1H : CH 3α) ; 7,16 (d, J = 8 Hz, 1H : CONH en 8) ; 7,52 (d, J = 9 Hz, 1H : CONH en 5) ; 7,65 (d, J = 7,5 Hz, 1H : CONH en 7) ; 7,94 (d, J = 9,5 Hz, 1H : CONH en 2).

### Exemple 7

10 La [(R)-2-(1-piperidyl)éthylthio-Sar]<sup>3</sup> [4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup> cyclosporine A est préparée selon la méthode suivante :

A 100 cm<sup>3</sup> d'ammoniac maintenus à une température voisine de -33°C, on ajoute 100 mg de sodium métallique puis 100 mg de nitrate ferrique. Dès que la coloration bleue du mélange a disparu, 1,45 g de sodium métallique sont ajoutés en 20 minutes.

15 Le mélange est agité à -33°C pendant 1 heure, puis une solution de 5 g de [4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup> cyclosporine A dans 75 cm<sup>3</sup> de tétrahydrofurane est ajoutée goutte à goutte en approximativement 15 minutes, puis une solution de 5,92 g de disulfure de di-[2-(1-piperidyl)éthyle] dans 25 cm<sup>3</sup> de dioxane est ajoutée en 10 minutes. Le mélange réactionnel est agité à une température voisine de -33°C

20 durant 90 minutes, puis 5 g de chlorure d'ammonium solide sont ajoutés par portions. Sous agitation, on laisse évaporer l'ammoniac en faisant passer la température du mélange de -33°C à 25°C en 2 heures. Le mélange est filtré et concentré à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 35°C. L'huile jaune résiduelle (12,3 g) est triturée avec 50 cm<sup>3</sup> de pentane. Le solide ainsi formé est filtré. Ce solide

25 est trituré avec un mélange de 50 cm<sup>3</sup> de pentane et 50 cm<sup>3</sup> d'hexane. Le solide est filtré puis trituré à nouveau avec 25 cm<sup>3</sup> d'heptane. Le solide est mis en solution dans 250 cm<sup>3</sup> de *t*-butylméthyléther et la solution est filtrée. Le filtrat est concentré à sec sous vide (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C pour conduire à 5,52 g d'une

meringue jaune pâle. Le solide est purifié par chromatographie sur une colonne d'alumine neutre (éluant : acétate d'éthyle/cyclohexane 4:1 en volume) en recueillant des fractions de 10 cm<sup>3</sup>. Les fractions contenant le produit attendu sont concentrées à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. Le solide  
 5 obtenu (1,86 g) est agité avec 25 cm<sup>3</sup> d'acétone, puis est filtré et séché sous vide (5 kPa) à une température voisine de 35°C pour donner 1,72 g de [(R)-2-(1-piperidyl)éthylthio-Sar]<sup>3</sup> [4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup> cyclosporine A sous la forme d'un solide jaune fondant à une température voisine de 143°C.

Spectre de R.M.N. <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ en ppm) : 1,35 (d, J = 7,5 Hz, 3H : CH<sub>3</sub>  
 10 7β) ; 1,62 (d, J = 5 Hz, 3H : CH<sub>3</sub> 7η) ; 1,71 (dd, J = 15 et 6,5 Hz : 1H correspondant à 1H du CH<sub>2</sub> 4β) ; de 2,20 à 3,10 (mt : les 8H correspondant au SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N et aux 2 NCH<sub>2</sub> de la pipéridine) ; 2,70 - 3,12 - 3,22 - 3,25 - 3,45 et 3,50 (6 s, respectivement 6H - 3H - 3H - 3H - 3H - 3H : les 7 NCH<sub>3</sub>) ; 3,66 (d, J = 6Hz, 1H : OH en 1β) ; 3,73 (mt, 1H : CH 1β) ; 4,54 (mt, 1H : CH 7α) ; 4,62 (t large, J = 9 Hz, 1H : CH 5α) ; 4,83  
 15 (mt, 1H : CH 8α) ; 4,97 (dd, J = 8 et 6 Hz, 1H : CH α d'une leucine) ; de 5,00 à 5,10 (mt, 2H : CH α d'une leucine et CH 2α) ; 5,13 (d, J = 11 Hz, 1H : CH 11α) ; de 5,25 à 5,40 (mt, 2H : CH=CH) ; 5,42 (t, J = 6,5 Hz, 1H : CH 4α) ; 5,50 (d, J = 6 Hz, 1H : CH 1α) ; 5,71 (dd, J = 10,5 et 4 Hz, 1H : CH α d'une leucine) ; 6,23 (s, 1H : CH 3α) ; 7,14 (d, J = 8 Hz, 1H : CONH en 8) ; 7,53 (d, J = 9 Hz, 1H : CONH en 5) ; 7,62 (mt,  
 20 1H : CONH en 7) ; 7,92 (d, J = 10 Hz, 1H : CONH en 2).

Le disulfure de di-[2-(1-pipéridyl)éthyle] peut être préparé selon la méthode suivante :

A une solution de 66 g de 2-(1-pipéridyl)-éthanethiol dans 850 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane refroidie à 0°C, on ajoute goutte à goutte en 10 minutes, 127,7 cm<sup>3</sup>  
 25 de triéthylamine puis une solution de 57,78 g d'iode dans 250 cm<sup>3</sup> d'éther de diéyle. Le mélange est agité durant 30 minutes, à une température voisine de 20°C, puis repris par 5 g de sulfite de sodium en solution dans 500 cm<sup>3</sup> d'eau distillée. Le pH de la phase aqueuse est ajusté à 9 par ajout d'une solution aqueuse saturée en carbonate de potassium. La phase organique est décantée, et la phase aqueuse est

extraite par 600 cm<sup>3</sup> au total de dichlorométhane. Les phases organiques réunies sont séchées sur sulfate de magnésium, puis concentrées à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C pour conduire à 56,5 g de disulfure de di-[2-(1-pipéridyl)éthyle] sous la forme d'une huile marron utilisée sans autre purification.

Le 2-(1-pipéridyl)-éthanethiol peut être préparé selon la méthode suivante :  
Une solution de 137 g de chlorhydrate de 2-(1-piperidyl)éthylisothiourée et de 84,3 g d'hydroxyde de sodium dans 1300 cm<sup>3</sup> d'eau distillée est chauffée à reflux durant 90 minutes. Après avoir été ramené à une température voisine de 20°C, le mélange est neutralisé (pH = 7) par ajout d'acide chlorhydrique concentré. Le mélange est extrait par 450 cm<sup>3</sup> au total de dichlorométhane. Les phases organiques réunies sont lavées par 100 cm<sup>3</sup> au total d'eau distillée, séchées sur sulfate de magnésium, puis concentrées à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40 °C pour conduire à 66 g de 2-(1-pipéridyl)-éthanethiol sous la forme d'une huile utilisée sans autre purification.

Le chlorhydrate de 2-(1-pipéridyl)éthylisothiourée peut être préparé de la manière suivante :  
Une suspension de 100 g de chlorhydrate de N-(2-chloroéthyl)pipéridine et de 41,5 g de thiourée dans 250 cm<sup>3</sup> de diméthylformamide est chauffée à une température voisine de 110°C durant 2 heures. Le mélange est refroidi à une température voisine de 20°C. Le solide blanc formé est ensuite filtré, rincé avec 100 cm<sup>3</sup> au total d'éther de diéthyle et séché sous vide (10 kPa) à une température voisine de 40°C pour conduire à 134,1 g de chlorhydrate de 2-(1-pipéridyl)éthylisothiourée sous la forme d'un solide blanc fondant à une température voisine de 240°C.

#### 25 **Exemple 8**

La [(R)-2-(N,N-diméthylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup> [4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup> cyclosporine A est préparée selon la méthode suivante :

Dans un réacteur contenant 34,17 g d'amidure de sodium et maintenu à une température voisine de -33°C, on introduit 900 cm<sup>3</sup> d'ammoniac liquide puis une solution de 59,6 g de [4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup> cyclosporine A dans 900 cm<sup>3</sup> de *t*-butylméthyléther est ajoutée goutte à goutte et sous agitation en approximativement 5 10 minutes. Le mélange est agité durant 45 minutes à une température voisine de -33°C, puis 81,47 g de disulfure de di-[2-(N,N-diméthylamino)éthyle] sont ajoutés en approximativement 10 minutes. Le mélange réactionnel est agité à une température voisine de -33°C durant 20 minutes, puis 66,82 g de chlorure d'ammonium solide sont ajoutés progressivement. Après 10 minutes d'agitation, on laisse évaporer 10 l'ammoniac en faisant passer la température du mélange de -33°C à 25°C en 150 minutes. Le mélange réactionnel est filtré. Le solide est lavé avec 320 cm<sup>3</sup> au total de *t*-butylméthyléther. Les phases organiques réunies sont concentrées à sec sous pression réduite (2,7 kPa), à une température voisine de 40°C. L'huile résiduelle (139,1 g) est diluée dans 100 cm<sup>3</sup> d'hexane, puis précipitée dans 700 cm<sup>3</sup> de ce même 15 solvant. Le solide obtenu est filtré et lavé avec 300 cm<sup>3</sup> au total de n-hexane. Le solide blanc résiduel est séché (66,7 g) puis mis en solution dans 500 cm<sup>3</sup> de *t*-butylméthyléther. Après ajout de 700 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, le pH est ajusté à 2 par ajout d'acide méthanesulfonique (~7,3 cm<sup>3</sup>). Le mélange est agité durant 1 heure à une température voisine de 20°C. La phase organique est décantée, et la phase 20 aqueuse est extraite par 500 cm<sup>3</sup> au total de *t*-butylméthyléther. Le pH de la phase aqueuse est amené à 9 par ajout d'ammoniaque à 20 % (~15 cm<sup>3</sup>). La phase aqueuse est alors extraite par 500 cm<sup>3</sup> au total de *t*-butylméthyléther. Les phases organiques réunies sont concentrées à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40 °C. Le solide résiduel (47,38 g) est purifié par chromatographie sur une 25 colonne d'alumine neutre, (éluant : acétate d'éthyle/méthanol 24:1 en volume), en collectant des fractions de 100 cm<sup>3</sup>. Les fractions contenant le produit attendu (fractions 1 à 7) sont concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C pour donner 37,27 g de [(R)-2-(N,N-diméthylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup> [4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup> cyclosporine A brute. Une aliquote de 3,75 g de [(R)-2-(N,N-

diméthylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup> [4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup> cyclosporine A brute est purifiée par chromatographie sur une colonne de silice (0,63-0,20 mm; éluant : acétonitrile-méthanol/ammoniac (28 % aq.) 85:15:1 en volume) en collectant des fractions de 50 cm<sup>3</sup>. Les fractions contenant le produit attendu sont évaporées à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C pour donner 1,70 g de [(R)-2-(N,N-diméthylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup> [4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup> cyclosporine A sous la forme d'un solide blanc cassé fondant vers 141°C.

Spectre de R.M.N. <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ en ppm) : 1,23 (d, J = 7 Hz, 3H : CH<sub>3</sub> 8β) ; 1,33 (d, J = 7,5 Hz, 3H : CH<sub>3</sub> 7β) ; 1,60 (d, J = 5 Hz, 3H : CH<sub>3</sub> 1η) ; 1,68 et 2,36 (2 dd, J = 15 et 6,5 Hz, 1H chacun : CH<sub>2</sub> 4β) ; 2,23 (s large, 6H : N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> du 2-diméthyl aminoéthylthio en 3α) ; 2,40 (mt, 1H : CH 5β) ; de 2,50 à 2,85 (mt, 4H : SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N du 2-diméthyl aminoéthylthio en 3α) ; 2,68 - 3,09 - 3,16 - 3,22 - 3,42 et 3,47 (6 s, respectivement 6H - 3H - 3H - 3H - 3H et 3H : 7 NCH<sub>3</sub>) ; 3,63 (d, J = 6 Hz, 1H : OH en 1β) ; 3,72 (mt, 1H : CH 1β) ; 4,52 (mt, 1H : CH 7α) ; 4,61 (t, J = 9 Hz, 1H : CH 5α) ; 4,81 (mt, 1H : CH 8α) ; 4,95 (dd, J = 9 et 6 Hz, 1H : CH α d'une leucine) ; de 5,00 à 5,10 (mt, 2H : CH 2α et CH α d'une leucine) ; 5,10 (d, J = 11 Hz, 1H : CH 11α) ; de 5,20 à 5,35 (mt, 2H : CH=CH) ; 5,40 (t, J = 6,5 Hz, 1H : CH 4α) ; 5,47 (d, J = 6 Hz, 1H : CH 1α) ; 5,68 (dd, J = 10,5 et 4 Hz, 1H : CH α d'une leucine) ; 5,96 (s, 1H : CH 3α) ; 7,12 (d, J = 8 Hz, 1H : CONH en 8) ; 7,46 (d, J = 9 Hz, 1H : CONH en 5) ; 7,60 (d, J = 7,5 Hz, 1H : CONH en 7) ; 7,92 (d, J = 9,5 Hz, 1H : CONH en 2).

La [4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup> cyclosporine A peut être préparée comme décrit dans la demande de brevet européen EP 484281.

### Exemple 9

La [(R)-2-(N,N-diéthylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup> [4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup> cyclosporine A est préparée selon la méthode suivante :

Dans un réacteur contenant 0,89 g d'amidure de sodium et maintenu à une température voisine de -33°C, on introduit 25 cm<sup>3</sup> d'ammoniac puis une solution de

1,654 g de [4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup> cyclosporine A dans 25 cm<sup>3</sup> de *t*-butylméthyléther est ajoutée goutte à goutte et sous agitation en approximativement 10 minutes. Le mélange est agité durant 90 minutes à une température voisine de -33°C, puis 2,87 g de disulfure de di-[2-(N,N-diéthylamino)éthyle] sont ajoutés en approximativement 5 minutes. Le mélange réactionnel est agité à une température voisine de -33°C durant 20 minutes, puis 1,74 g de chlorure d'ammonium solide sont ajoutés progressivement. Après 10 minutes d'agitation, on laisse évaporer l'ammoniac en faisant passer la température du milieu de -33 à 25°C en 150 minutes. Le mélange réactionnel est filtré. Le solide est lavé avec 8,8 cm<sup>3</sup> au total de *t*-butylméthyléther.

Les phases organiques réunies sont concentrées à sec sous pression réduite (2,7 kPa), à une température voisine de 40°C. L'huile résiduelle est agitée durant 15 minutes avec un mélange de 5 cm<sup>3</sup> de *t*-butylméthyléther et 80 cm<sup>3</sup> d'heptane. Le solide obtenu est filtré puis rincé avec 15 cm<sup>3</sup> au total de n-heptane. Le solide résiduel est mis en solution dans 25 cm<sup>3</sup> de *t*-butylméthyléther puis 35 cm<sup>3</sup> d'eau distillée sont ajoutés à la solution obtenue et le pH de la phase aqueuse est ajusté à 2 par ajout d'acide méthanesulfonique. La phase organique est décantée, la phase aqueuse est extraite par 30 cm<sup>3</sup> au total de *t*-butylméthyléther. Les phases aqueuses réunies sont amenées à pH = 9 par ajout d'ammoniaque à 20 %. La phase aqueuse est alors extraite par 25 cm<sup>3</sup> au total de *t*-butylméthyléther. Les phases organiques réunies sont lavées par 10 ml d'eau déminéralisée puis concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C. L'huile marron résiduelle (1,5 g) est purifiée par chromatographie sur une colonne d'alumine neutre éluee par un mélange d'acétate d'éthyle et d'éthanol 9:1 (en volumes). Les fractions contenant le produit attendu sont concentrées sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C pour donner 0,8 g d'un solide. Une aliquote de ce solide (0,077 g) est purifiée par chromatographie sur couche mince de silice préparative (éluant : acétonitrile-méthanol-ammoniac à 28 %, 260:40:3 en volume). La silice contenant le produit attendu est prélevée et agitée avec 5 cm<sup>3</sup> de dichlorométhane. Après filtration et évaporation sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C de la

phase organique, on obtient 39 mg de [(R)-2-(N,N-diéthylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup> [4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A sous la forme d'un solide amorphe blanc cassé fondant vers 140°C.

Spectre de R.M.N. <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ en ppm) : 1,34 (d, J = 7,5 Hz, 3H : CH<sub>3</sub> 7β) ; 1,60 (d, J = 5 Hz, 3H : CH<sub>3</sub> 1η) ; 1,68 et 2,36 (2 dd, J = 15 et 6,5 Hz, 1H chacun : CH<sub>2</sub> 4β) ; de 2,45 à 2,85 (mt : les 4H correspondant au SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N du 2-diéthyl aminoéthylthio en 3α) ; 2,51 (mt : les 4H correspondant au 2 NCH<sub>2</sub> du 2-diéthyl aminoéthylthio en 3α) ; 2,70 - 3,11 - 3,18 - 3,24 - 3,44 et 3,49 (6 s, respectivement 6H - 3H - 3H - 3H - 3H et 3H : 7 NCH<sub>3</sub>) ; 3,63 (d, J = 6 Hz, 1H : OH en 1β) ; 3,74 (mt, 1H : CH 1β) ; 4,52 (mt, 1H : CH 7α) ; 4,61 (t, J = 9 Hz, 1H : CH 5α) ; 4,81 (mt, 1H : CH 8α) ; 4,97 (dd, J = 9 et 7 Hz, 1H : CH α d'une leucine) ; de 5,00 à 5,10 (mt, 2H : CH 2α et CH α d'une leucine) ; 5,12 (d, J = 11 Hz, 1H : CH 11α) ; de 5,25 à 5,40 (mt, 2H : CH=CH) ; 5,40 (t, J = 6,5 Hz, 1H : CH 4α) ; 5,47 (d, J = 6 Hz, 1H : CH 1α) ; 5,68 (dd, J = 10,5 et 4 Hz, 1H : CH α d'une leucine) ; 5,96 (s, 1H : CH 3α) ; 7,13 (d, J = 8 Hz, 1H : CONH en 8) ; 7,47 (d, J = 9 Hz, 1H : CONH en 5) ; 7,61 (d, J = 7,5 Hz, 1H : CONH en 7) ; 7,89 (d, J = 9,5 Hz, 1H : CONH en 2).

Le disulfure de di-[2-(N,N-diéthylamino)éthyle] peut être préparé selon Bretschneider et al., Montatsh. Chem., 81, 385-396 (1950).

## 20 Exemple 10

La [(R)-2-(N-méthyl-N-*t*-butylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup> [4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup> cyclosporine A est préparée selon la méthode suivante :

A 720 cm<sup>3</sup> d'ammoniac maintenus à une température voisine de -33°C, on ajoute 100 mg de sodium métallique puis 100 mg de nitrate ferrique. Dès que la coloration bleue du mélange a disparu, 6,50 g de sodium métallique sont ajoutés en 30 minutes. Le mélange est agité à -33°C pendant 90 minutes, et une solution de 24 g de [4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup> cyclosporine A dans 720 cm<sup>3</sup> de *t*-butylméthyléther est ajoutée goutte à goutte en approximativement 30 minutes, puis une solution de 3,5 g de

disulfure de di-[2-(N-méthyl-N-*t*-butylamino)éthyle] dans 120 cm<sup>3</sup> de *t*-butylméthyl-éther est ajoutée en 15 minutes. Le mélange réactionnel est agité à une température voisine de -33°C durant 30 minutes, puis 24 g de chlorure d'ammonium solide sont ajoutés par portions. Sous agitation, on laisse évaporer l'ammoniac en faisant passer  
 5 la température du mélange de -33°C à 25°C en 12 heures. Le mélange réactionnel est filtré. Le solide est lavé avec 1800 cm<sup>3</sup> au total de diéthyléther. Les phases organiques réunies sont concentrées sous pression réduite (2,7 kPa), à une température voisine de 40°C. L'huile résiduelle (50,3 g) est triturée durant 2 heures avec 1200 cm<sup>3</sup> de pentane. Le solide obtenu est filtré, lavé avec 1800 cm<sup>3</sup> d'éther de  
 10 diéthyle. Le solide blanc résiduel (34,9 g) est purifié par chromatographie sur une colonne de silice (0,020-0,045 mm; éluant : dichlorométhane/éthanol 19:1 en volume). Les fractions contenant le produit attendu sont concentrées à sec sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C pour donner 8,9 g d'un solide. Ce solide, trituré 12 heures avec du pentane, donne après filtration et séchage  
 15 à une température voisine de 40°C, 6,1 g de [(R)-2-(N-méthyl-N-*t*-butylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup> [4'-hydroxyMeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A sous la forme d'un solide blanc cassé fondant vers 126-136°C.

Spectre de R.M.N. <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ en ppm) : 1,02 (s : les 9H correspondant au C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>) ; 1,24 (mt : les 3H correspondant au CH<sub>3</sub> 8β) ; 1,33 (d, J = 7,5 Hz, 3H : CH<sub>3</sub> 7β) ; 1,61 (d, J = 5 Hz, 3H : CH<sub>3</sub> 1η) ; 1,69 et 2,36 (2 dd, J = 15 et 6,5 Hz, 1H chacun : CH<sub>2</sub> 4β) ; 2,18 (s large, 3H : NCH<sub>3</sub> du 2 N-*t*-butyl N-méthylamino-éthylthio en 3α) ; de 2,50 à 2,85 (mt : les 4H correspondant au SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N du 2 N-*t*-butyl-N-méthyl aminoéthylthio en 3α) ; 2,70 - 3,11 - 3,14 - 3,24 - 3,43 et 3,48 (6 s, respectivement 6H - 3H - 3H - 3H - 3H et 3H : les 7 NCH<sub>3</sub>) ; 3,67 (mt, 1H : OH en 1β) ; 3,72 (mt, 1H : CH 1β) ; 4,52 (mt, 1H : CH 7α) ; 4,62 (t large, J = 9 Hz, 1H : CH 5α) ; 4,82 (mt, 1H : CH 8α) ; de 4,90 à 5,10 (mt, 3H : CH α de deux leucines et CH 2α) ; 5,11 (d, J = 11 Hz, 1H : CH 11α) ; de 5,20 à 5,40 (mt, 2H : CH=CH) ; 5,41 (t, J = 6,5 Hz, 1H : CH 4α) ; 5,48 (d, J = 6 Hz, 1H : CH 1α) ; 5,68 (dd, J = 10,5 et 4 Hz, 1H : CH α d'une leucine) ; 5,87 (s,



$^1\text{H}$  : CH  $3\alpha$ ) ; 7,14 (d,  $J = 8$  Hz,  $^1\text{H}$  : CONH en 8) ; 7,48 (d,  $J = 9$  Hz,  $^1\text{H}$  : CONH en 5); 7,64 (d,  $J = 8$  Hz,  $^1\text{H}$  : CONH en 7) ; 7,94 (d,  $J = 10$  Hz,  $^1\text{H}$  : CONH en 2).

Le disulfure de di-[2-(N-méthyl-N-*t*-butylamino)éthyle] peut être préparé de la manière suivante :

- 5 A une solution de 28,7 g de 2-(N-*t*-butyl-N-méthylamino)-éthanethiol dans 190 cm<sup>3</sup> de méthanol, on ajoute 0,1 cm<sup>3</sup> d'une solution aqueuse 1 N d'hydroxyde de sodium, puis on fait passer un courant d'air durant 60 heures à une température voisine de 20°C. Le méthanol est éliminé sous pression réduite (2,7 kPa). L'huile résiduelle est mise en solution dans 400 cm<sup>3</sup> d'éther de diéthyle. La phase organique est séchée sur
- 10 sulfate de magnésium, filtrée, puis concentrée sous pression réduite (2,7 kPa) à une température voisine de 40°C pour conduire à 26,6 g de disulfure de di-[2-(N-méthyl-N-*t*-butylamino)éthyle] sous la forme d'une huile jaune.

Le 2-(N-*t*-butyl-N-méthylamino)-éthanethiol peut être préparé selon la méthode suivante :

- 15 Une solution de 125 cm<sup>3</sup> de N-*t*-butyl-N-méthylamine et de 50 g d'épisulfure d'éthylène dans 750 cm<sup>3</sup> de *t*-butylméthyléther est agitée durant 48 heures à une température voisine du reflux. Le mélange est concentré sous pression réduite (10 kPa) à une température voisine de 35°C. Une distillation fractionnée sous
- 20 pression réduite (5,8 kPa) du mélange réactionnel conduit à 28,7 g de 2-(N-*t*-butyl-N-méthylamino)-éthanethiol sous la forme d'une huile incolore bouillant entre 84 et 86°C sous 5,8 kPa.

### **Exemple 11**

En opérant de manière analogue à la méthode décrite dans l'exemple 1, on prépare les produits suivants :

- 25 [(R)-2-aminoéthylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
 [(R)-2-(N-méthylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
 [(R)-2-(N-éthylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
 [(R)-2-(N-*i*.propylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;

- [(R)-2-(N-*t*.butylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
[(R)-2-(N-phénylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
[(R)-2-(N-benzylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
[(R)-2-(N-méthyl-N-éthylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
5 [(R)-2-(N-méthyl-N-allylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
[(R)-2-(N-méthyl-N-phénylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
[(R)-2-(N,N-di-*i*.propylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
[(R)-2-(N,N-diallylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
[(R)-3-aminopropylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
10 [(R)-3-(N-méthylamino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
[(R)-3-(N-éthylamino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
[(R)-3-(N-*i*.propylamino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
[(R)-3-(N-*t*.butylamino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
[(R)-3-(N-phénylamino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
15 [(R)-3-(N-benzylamino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
[(R)-3-(N-méthyl-N-éthylamino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
[(R)-3-(N-méthyl-N-*i*.propylamino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
[(R)-3-(N-méthyl-N-*t*.butylamino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
[(R)-3-(N-méthyl-N-allylamino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
20 [(R)-3-(N-méthyl-N-phénylamino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
[(R)-3-(N-méthyl-N-benzylamino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
[(R)-3-(N,N-diéthylamino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
[(R)-3-(N,N-di-*i*.propylamino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
[(R)-3-(N,N-diallylamino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
25 [(R)-3-(1-pipéridyl)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
[(R)-4-aminobutylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
[(R)-4-(N-méthylamino)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
[(R)-4-(N-éthylamino)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
[(R)-4-(N-*i*.propylamino)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;

- [(R)-4-(N-*t*.butylamino)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-4-(N-phénylamino)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-4-(N-benzylamino)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-4-(N-méthyl-N-éthylamino)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;
- 5 [(R)-4-(N-méthyl-N-*i*.propylamino)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-4-(N-méthyl-N-*t*.butylamino)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-4-(N-méthyl-N-allylamino)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-4-(N-méthyl-N-phénylamino)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-4-(N-méthyl-N-benzylamino)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;
- 10 [(R)-4-(N,N-diméthylamino)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-4-(N,N-diéthylamino)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-4-(N,N-di-*i*.propylamino)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-4-(N,N-diallylamino)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-4-(1-pipéridyl)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;
- 15 [(R)-2-amino-2-méthylpropylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-2-(N,N-diméthylamino)-2-méthylpropylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-2-(N,N-diéthylamino)-2-méthylpropylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-2-(1-pipéridyl)-2-méthylpropylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-3-amino-3-méthylbutylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;
- 20 [(R)-3-(N,N-diméthylamino)-3-méthylbutylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-3-(N,N-diéthylamino)-3-méthylbutylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-3-(1-pipéridyl)-3-méthylbutylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-2-(1-morpholino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-2-(1-azétidino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;
- 25 {(R)-2-[1-(4-méthylpipérazino)]éthylthio-Sar}<sup>3</sup>-cyclosporine A ;
- {(R)-2-[1-(4-phénylpipérazino)]éthylthio-Sar}<sup>3</sup>-cyclosporine A ;
- {(R)-2-[1-(4-benzylpipérazino)]éthylthio-Sar}<sup>3</sup>-cyclosporine A ;
- {(R)-2-[1-(4-méthyl-1,2,3,6-tétrahydropyridyl)]éthylthio-Sar}<sup>3</sup>-cyclosporine A ;
- {(R)-2-[1-(4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridyl)]éthylthio-Sar}<sup>3</sup>-cyclosporine A ;

- [(R)-3-(1-morpholino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
 [(R)-3-(1-azétidino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
 {(R)-3-[1-(4-méthylpipérazino)]propylthio-Sar}<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
 {(R)-3-[1-(4-phénylpipérazino)]propylthio-Sar}<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
 5 {(R)-3-[1-(4-benzylpipérazino)]propylthio-Sar}<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
 {(R)-3-[1-(4-méthyl-1,2,3,6-tétrahydropyridyl)]propylthio-Sar}<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
 {(R)-3-[1-(4-méthyl-1,2,3,6-tétrahydropyridyl)]propylthio-Sar}<sup>3</sup>-cyclosporine A ;  
 [(R)-2-aminoéthylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;  
 [(R)-2-(N-méthylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;  
 10 [(R)-2-(N-éthylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;  
 [(R)-2-(N-iso-propylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;  
 [(R)-2-(N-*t*-butylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;  
 [(R)-2-(N-phénylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;  
 [(R)-2-(N-benzylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;  
 15 [(R)-2-(N-méthyl-N-éthylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-  
 cyclosporine A ;  
 [(R)-2-(N-méthyl-N-iso-propylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-  
 cyclosporine A ;  
 [(R)-2-(N-méthyl-N-tert-butylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-  
 20 cyclosporine A ;  
 [(R)-2-(N-méthyl-N-allylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-  
 cyclosporine A ;  
 [(R)-2-(N-méthyl-N-phénylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-  
 cyclosporine A ;  
 25 [(R)-2-(N-méthyl-N-benzylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-  
 cyclosporine A ;  
 [(R)-2-(N,N-diéthylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;  
 [(R)-2-(N,N-di-iso-propylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-  
 cyclosporine A ;

- [(R)-2-(N,N-diallylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;  
 [(R)-2-(1-pipéridyl)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;  
 [(R)-3-aminopropylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;  
 [(R)-3-(N-méthylamino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;  
 5 [(R)-3-(N-éthylamino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;  
 [(R)-3-(N-iso-propylamino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;  
 [(R)-3-(N-tert-butylamino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;  
 [(R)-3-(N-phénylamino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;  
 [(R)-3-(N-benzylamino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;  
 10 [(R)-3-(N-méthyl-N-éthylamino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-  
 cyclosporine A ;  
 [(R)-3-(N-méthyl-N-*i*-propylamino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-  
 cyclosporine A ;  
 [(R)-3-(N-méthyl-N-*t*-butylamino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-  
 15 cyclosporine A ;  
 [(R)-3-(N-méthyl-N-allylamino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-  
 cyclosporine A ;  
 [(R)-3-(N-méthyl-N-phénylamino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-  
 cyclosporine A ;  
 20 [(R)-3-(N-méthyl-N-benzylamino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-  
 cyclosporine A ;  
 [(R)-2-(N,N-diméthylamino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;  
 [(R)-3-(N,N-diéthylamino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;  
 [(R)-3-(N,N-di-*i*-propylamino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-  
 25 cyclosporine A ;  
 [(R)-3-(N,N-diallylamino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;  
 [(R)-3-(1-pipéridyl)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;  
 [(R)-4-aminobutylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;  
 [(R)-4-(N-méthylamino)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;

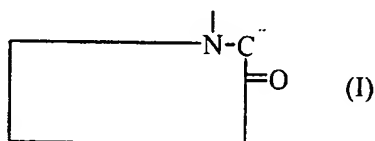
- [(R)-4-(N-éthylamino)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-4-(N-*i*-propylamino)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-4-(N-*t*-butylamino)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-4-(N-phénylamino)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- 5 [(R)-4-(N-benzylamino)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-4-(N-méthyl-N-éthylamino)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-4-(N-méthyl-N-*i*-propylamino)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- 10 [(R)-4-(N-méthyl-N-*t*-butylamino)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-4-(N-méthyl-N-allylamino)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-4-(N-méthyl-N-phénylamino)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- 15 [(R)-4-(N-méthyl-N-benzylamino)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-4-(N,N-diméthylamino)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-4-(N,N-diéthylamino)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- 20 [(R)-4-(N,N-di-*i*-propylamino)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-4-(N,N-diallylamino)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-4-(1-pipéridyl)butylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-2-amino-2-méthylpropylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-2-(N,N-diméthylamino)-2-méthylpropylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- 25 [(R)-2-(N,N-diéthylamino)-2-méthylpropylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-2-(1-pipéridyl)-2-méthylpropylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-3-amino-3-méthylbutylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;

- [(R)-3-(N,N-diméthylamino)-3-méthylbutylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-3-(N,N-diéthylamino)-3-méthylbutylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- 5 [(R)-3-(1-pipéridyl)-3-méthylbutylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-2-(1-morpholino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-2-(1-azétidino)éthylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- {(R)-2-[1-(4-méthylpipérazino)]éthylthio-Sar}<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- 10 {(R)-2-[1-(4-phénylpipérazino)]éthylthio-Sar}<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- {(R)-2-[1-(4-benzylpipérazino)]éthylthio-Sar}<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- {(R)-2-[1-(4-méthyl-1,2,3,6-tétrahydropyridyl)]éthylthio-Sar}<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- 15 {(R)-2-[1-(4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridyl)]éthylthio-Sar}<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-3-(1-morpholino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- [(R)-3-(1-azétidino)propylthio-Sar]<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- 20 {(R)-3-[1-(4-méthylpipérazino)]propylthio-Sar}<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- {(R)-3-[1-(4-phénylpipérazino)]propylthio-Sar}<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- {(R)-3-[1-(4-benzylpipérazino)]propylthio-Sar}<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- 25 {(R)-3-[1-(4-méthyl-1,2,3,6-tétrahydropyridyl)]propylthio-Sar}<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A ;
- {(R)-3-[1-(4-méthyl-1,2,3,6-tétrahydropyridyl)]propylthio-Sar}<sup>3</sup>-[4'-hydroxy-MeLeu]<sup>4</sup>-cyclosporine A.

# REVENDECATIONS

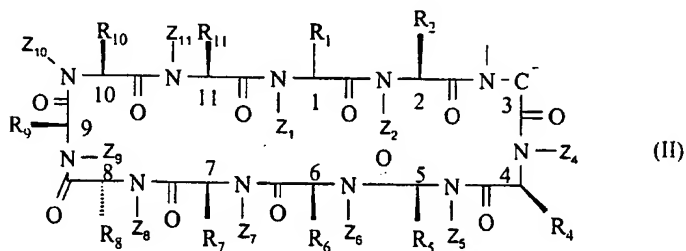
1. Procédé de préparation d'un polyanion utile pour la préparation de dérivés de cyclosporine modifiés en position -3 caractérisé en ce que l'on traite une cyclosporine par un amidure alcalin dans un mélange binaire comprenant de l'ammoniac liquide ou une amine aliphatique de bas poids moléculaire et un cosolvant, éventuellement en présence de diméthylpropylénurée (DMPU).

2. Procédé selon la revendication 1 pour la préparation d'un polyanion utile pour la préparation de dérivés de cyclosporine caractérisé en ce que ledit polyanion a pour formule :



dans laquelle  $\boxed{\text{Cyclosporine}}$  représente une cyclosporine sur laquelle un ou des groupements hydroxy et/ou un ou des atomes d'azote non-méthylés en position  $\alpha$  et/ou tout autre groupement acide déprotonable sont éventuellement déprotonés, ou sont sous forme protégée.

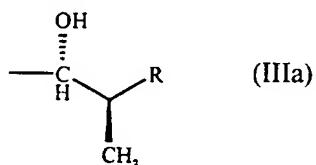
3. Procédé selon l'une des revendications 1 ou 2 caractérisé en ce que le polyanion a pour formule générale :



pour laquelle :



- i) Les substituants  $R_1$  à  $R_{11}$  et  $Z_1$  à  $Z_{11}$  sont définis comme pour la cyclosporine A, ou bien
- ii) Les substituants  $R_1$  à  $R_{11}$  et  $Z_1$  à  $Z_{11}$  sont définis comme pour la cyclosporine A, à l'exception de  $R_4$  et  $Z_4$  qui sont définis de façon à avoir en position -4 l'acide aminé
- 5 4'-(hydroxy)méthylleucine (MeLeu), ou bien
- iii) Les substituants  $R_2$ ,  $R_5$  à  $R_{11}$  et  $Z_2$ ,  $Z_5$  à  $Z_{11}$  sont définis comme pour la cyclosporine A, et
- $Z_1$  est un groupement méthyle, et  $R_1$  a pour formule :



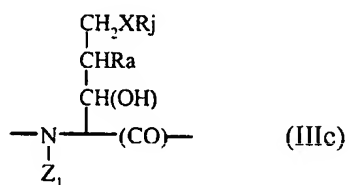
- 10 - R étant un groupement de formule  $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{R}'$  pour lequel  $\text{R}'$  représente un radical alkylthio, aminoalkylthio, alkylaminoalkylthio, dialkylaminoalkylthio, pyrimidinylthio, thiazolylthio, N-alkylimidazolylthio, hydroxyalkylphénylthio, hydroxyalkylphényloxy, nitrophénylamino, ou 2-oxopyrimidin-1-yle, ou
- 15 - R étant un groupement de formule  $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{Alk}$  pour lequel Alk représente un groupement alkyle, et
- $Z_4$  et  $R_4$  sont des radicaux tels que l'on a en position -4 un acide aminé MeLeu ou 4'-(hydroxy)MeLeu, ou bien,

- iv)  $Z_1$  et  $R_1$  sont des groupements tels que l'on a en position -1 une homothréonine
- 20 substituée de formule générale :



dans laquelle  $\text{R}_i$  représente le *n*-propyle ou le propényle et la double liaison présente de préférence une configuration trans, et

- R<sub>2</sub> et Z<sub>2</sub> sont des radicaux tels que l'on a en position -2 l'acide alpha-aminobutyrique (αAbu), la valine (Val), la norvaline (Nva), ou la thréonine (Thr), et
  - R<sub>4</sub> et Z<sub>4</sub> sont des radicaux tels que l'on a en position -4 la N-méthyl-gamma-hydroxy-leucine ou la N-méthyl-gamma-acétyloxy-leucine, et
  - R<sub>5</sub> et Z<sub>5</sub> sont des radicaux tels que l'on a en position -5 la valine, et
  - R<sub>6</sub>, Z<sub>6</sub>, R<sub>9</sub>, Z<sub>9</sub>, R<sub>10</sub> et Z<sub>10</sub> sont des radicaux tels que l'on a en position -6, -9, et -10 la N-méthylleucine, et
  - Z<sub>7</sub> et R<sub>7</sub> sont des radicaux tels que l'on a en position -7 l'alanine (Ala), et
  - Z<sub>8</sub> et R<sub>8</sub> sont des radicaux tels que l'on a en position -8 la (D)-alanine ou la (D)-sérine, et
  - Z<sub>11</sub> et R<sub>11</sub> sont des radicaux tels que l'on a en position -11 la N-méthyl-valine, ou bien,
- v) Z<sub>1</sub> et R<sub>1</sub> sont des groupements tels que l'on a en position -1 un substituant méthyl-
- (4R)-4-[(E)-2-butényl-4-méthyl-L-thréonine (MeBmt), ou un substituant ayant pour formule générale :



- R<sub>j</sub> représentant un atome d'hydrogène, ou un groupement alkyle inférieur, un alcényle inférieur, un halogénoalkyle inférieur, un aryle, un alkyloxy inférieur, un alkoxy C<sub>1-6</sub> alkyle, un hydroxyméthyle, un alkylthio inférieur, un alkylthioC<sub>1-6</sub>alkyle, un mercaptoC<sub>1-6</sub>alkyle, ou un hétéroaryle, les groupements aryle et hétéroaryle pouvant être substitués avec un ou plusieurs groupements fonctionnels alkyle C<sub>1-6</sub>, alcanoyle C<sub>1-6</sub>, halogénoalkyle C<sub>1-6</sub>, halogène, cyano, hydroxyalkyle C<sub>1-3</sub>, alkyloxy C<sub>1-6</sub>, alkyl-S(O)<sub>n</sub> C<sub>1-6</sub> avec n = 0, 1, ou 2, NR<sub>b</sub>COR<sub>c</sub> avec R<sub>b</sub> et R<sub>c</sub> représentant indépendamment H ou un alkyle C<sub>1-6</sub>, -NO<sub>2</sub>, -NR<sub>b</sub>R<sub>c</sub>, -OR<sub>b</sub>, -CONR<sub>b</sub>R<sub>c</sub>, -COR<sub>b</sub>, -NR<sub>b</sub>CONR<sub>b</sub>R<sub>c</sub>, NR<sub>b</sub>COR<sub>c</sub>, -OCOR<sub>b</sub>, -SCOR<sub>b</sub>, ou -OCH<sub>2</sub>O-, et

$R_a$  étant un alkyle inférieur,  $Z_1$  étant un alkyle inférieur, un phénylalkyle inférieur, ou un aryle, et X représentant S, SO, SO<sub>2</sub>, O, ou bien NR<sub>b</sub>, et

- $Z_2$  et  $R_2$  sont des substituants tels que l'on a en position -2 l'acide aminé L-2-aminobutyryle, norvalyle, L-thréonyle, ou bien le même acide aminé qu'en position -1, et
- $Z_4$  et  $R_4$  sont des substituants tels que l'on a en position -4 l'acide aminé N-méthyl-L-leucyle, et
- $Z_5$  et  $R_5$  sont des substituants tels que l'on a en position -5 l'acide aminé L-valyle, ou norvalyle, et
- 10 •  $Z_6$  et  $R_6$  sont des substituants tels que l'on a en position -6 l'acide aminé N-méthyl-L-leucyle, et
- $Z_7$  et  $R_7$  sont des substituants tels que l'on a en position -7 l'acide aminé L-alanyle, L-2-aminobutyryle, ou L-phénylalanyle, et
- $Z_8$  et  $R_8$  sont des substituants tels que l'on a en position -8 l'acide aminé D-alanyle ou L-alanyle, et
- 15 •  $Z_9$  et  $R_9$  sont des substituants tels que l'on a en position -9 l'acide aminé N-méthyl-L-leucyle ou N-méthyl-L-valyle, et
- $Z_{10}$  et  $R_{10}$  sont des substituants tels que l'on a en position -10 l'acide aminé N-méthyl-L-leucyle ou L-leucyle, et
- 20 •  $Z_{11}$  et  $R_{11}$  sont des substituants tels que l'on a en position -11 l'acide aminé N-méthyl-L-valyle, L-valyle, ou L-2-aminobutyryle, ou bien

vi) Les substituants  $R_4$  à  $R_{11}$ , et  $Z_4$  à  $Z_{11}$  sont définis comme pour la cyclosporine A, et :  $Z_1$  et  $R_1$  sont des substituants tels que l'on a en position -1 l'acide aminé MeBmt ou dihydro-MeBmt, et

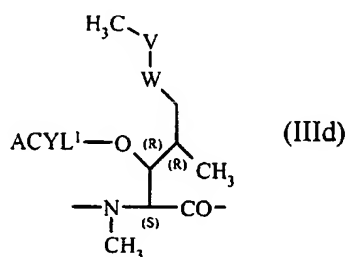
- 25 •  $Z_2$  et  $R_2$  sont des substituants tels que l'on a en position -2 l'acide aminé  $\alpha$ Abu, Thr, Val, ou Nva, ou bien

vii) Les substituants  $R_7$  à  $R_{11}$ , et  $Z_7$  à  $Z_{11}$  sont définis comme pour la cyclosporine A, et :

- Z<sub>1</sub> et R<sub>1</sub> sont des substituants tels que l'on a en position -1 l'acide aminé MeBmt, dihydro-MeBmt, ou 8'-hydroxy-MeBmt, et
  - Z<sub>2</sub> et R<sub>2</sub> sont des substituants tels que l'on a en position -2 l'acide aminé αAbu, Val, Thr, Nva, ou méthyl-O-thréonine (MeOThr), et
  - 5 • Z<sub>4</sub> et R<sub>4</sub> sont des substituants tels que l'on a en position -4 l'acide aminé MeLeu, γ-hydroxy-MeLeu, MeIle, MeVal, MeThr, MeAla, Mealle, ou MeaThr, et
  - Z<sub>5</sub> et R<sub>5</sub> sont des substituants tels que l'on a en position -5 l'acide aminé Val, Leu, MeVal, ou MeLeu, et
  - Z<sub>6</sub> et R<sub>6</sub> sont des substituants tels que l'on a en position -6 l'acide aminé MeLeu, γ-hydroxy-MeLeu, ou MeAla,
  - 10
- à condition que lorsque R<sub>4</sub> et Z<sub>4</sub> signifient MeLeu, R<sub>5</sub> et Z<sub>5</sub> signifient alors MeVal ou MeLeu ou bien R<sub>1</sub> et Z<sub>1</sub> signifient 8'-hydroxy-MeBmt, ou bien

viii) Les substituants  $R_1$  à  $R_{11}$  et  $Z_1$  à  $Z_{11}$  définissent une cyclosporine pour laquelle le carbone en 3' du résidu en position -1 ou le carbone en  $\beta$  du résidu en position-2 est substitué par O-acyle ou oxo, et notamment

- $Z_1$  et  $R_1$  sont des substituants tels que l'on a en position -1 un résidu de formule générale



pour laquelle -v-w- est  $\text{CH}_2\text{-CH}_2$  ou  $\text{CH=CH}$  trans et ACYL<sup>1</sup> représente un groupe  
20 acyle, et

- Z<sub>2</sub> et R<sub>2</sub> sont des substituants tels que l'on a en position -2 un acide aminé αAbu, Val, Thr, Nva, ou le résidu d'un α-acide aminé β-O-acylé, et
- Z<sub>5</sub> et R<sub>5</sub> sont des substituants tels que l'on a en position -5 un acide aminé Val, ou Nva lorsque l'on a simultanément un acide aminé Nva en position -2, et

- Z<sub>8</sub> et R<sub>g</sub> sont des substituants tels que l'on a en position -8 un acide aminé (D)-Ala, un résidu d'un  $\alpha$ -acide aminé  $\beta$ -O-acylé ou  $\beta$ -hydroxylé ayant la configuration (D), et
  - les substituants en position -4, -6, -7, et -9 à -11 sont définis comme pour la
- 5 cyclosporine A,

un ou des groupements hydroxy et/ou un ou des atomes d'azote non-méthylés en position  $\alpha$  et/ou tout autre groupement acide déprotonable présents dans ladite formule générale (II) étant éventuellement déprotonés, ou étant sous forme protégée.

4. Procédé selon l'une des revendications 1 à 3 caractérisé en ce que l'amidure alcalin

10 est l'amidure de sodium, l'amidure de potassium, le sel de lithium de l'hexaméthylidisilazane, ou le sel de sodium de l'hexaméthylidisilazane.

5. Procédé selon l'une des revendications 1 à 3 caractérisé en ce que la cyclosporine est traitée par 10 à 20 moles d'amidure alcalin par mole de cyclosporine.

6. Procédé selon l'une des revendications 1 à 3 caractérisé en ce que le mélange

15 binaire contient 40 % à 60 % en volume d'ammoniac liquide ou d'amine aliphatique de bas poids moléculaire.

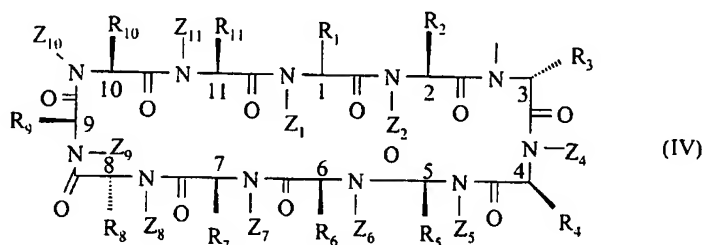
7. Procédé selon l'une des revendications 1 à 3 caractérisé en ce que l'amine aliphatique de bas poids moléculaire est la méthylamine.

8. Procédé selon l'une des revendications 1 à 3 caractérisé en ce que le cosolvant est

20 choisi parmi les éthers aliphatiques ou cycliques, les hydrocarbures aromatiques, ou la pyridine.

9. Procédé selon la revendication 8 caractérisé en ce que le cosolvant est choisi parmi le tétrahydrofuranne, le *t*-butylméthyléther, le diméthoxyéthane, l'anisole, le dioxanne ou le toluène.

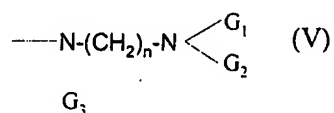
10. Procédé selon l'une des revendications 1 à 3 caractérisé en ce qu'on opère à température comprise entre -38°C et la température d'ébullition de l'ammoniac liquide ou de l'amine aliphatique de bas poids moléculaire.
11. Procédé selon l'une des revendications 1 à 3 caractérisé en ce que le ratio (poids/poids) de cyclosporine mis en jeu par rapport au poids total de la solution est inférieur ou égal à 15%.
12. Utilisation du polyanion préparé selon l'une des revendications précédentes pour la préparation de dérivés de cyclosporine de formule générale :



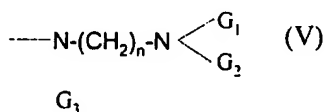
- 10 pour laquelle :
- 1) les substituants  $R_1$  à  $R_{11}$  et  $Z_1$  à  $Z_{11}$  sont tels que définis dans la revendication 3 en i), et  $R_3$  représente un substituant -S-Alk- $R^\circ$  pour lequel :
- Alk représente un radical alkylène contenant 2 à 6 atomes de carbone en chaîne droite ou ramifiée ou cycloalkylène contenant 3 à 6 atomes de carbone et
  - 15 -  $R^\circ$  représente
    - soit un radical carboxy ou alkyloxycarbonyle,
    - soit un radical -NG<sub>1</sub>G<sub>2</sub> pour lequel G<sub>1</sub> et G<sub>2</sub>, identiques ou différents, représentent des atomes d'hydrogène, ou des radicaux alkyle, alcényle (2 à 4C), cycloalkyle (3 à 6C), phényle éventuellement substitué (par un atome d'halogène, alkyloxy, alkyloxycarbonyle, amino, alkylamino ou dialkylamino), ou représentent des radicaux benzyle ou hétérocyclyle saturé ou insaturé contenant 5 ou 6 chaînons et 1 à 3 hétéroatomes, ou pour lequel G<sub>1</sub> et G<sub>2</sub> forment avec l'atome d'azote auquel ils sont rattachés un hétérocycle contenant 4 à 6 chaînons, saturé ou insaturé, pouvant
- 20

contenir un autre hétéroatome choisi parmi l'azote, l'oxygène ou le soufre et éventuellement substitué par alkyle, phényle ou benzyle,

- soit un radical de formule générale :



- 5 pour lequel  $G_1$  et  $G_2$  sont définis comme ci-dessus,  $G_3$  représente un atome d'hydrogène ou un radical alkyle et  $n$  est un nombre entier de 2 à 4, les portions ou radicaux alkyle définis ci-dessus étant droits ou ramifiés et contenant 1 à 4 atomes de carbone, ou bien
- 2) les substituants  $R_1$  à  $R_{11}$  et  $Z_1$  à  $Z_{11}$  sont tels que définis dans la revendication 3 en ii), et  $R_3$  représente -S-CH<sub>3</sub> ou un substituant -S-Alk-R° pour lequel :
- 10 – Alk représente un radical alkylène contenant 2 à 6 atomes de carbone en chaîne droite ou ramifiée ou cycloalkylène contenant 3 à 6 atomes de carbone et
- R° représente
- soit un radical hydroxy, carboxy ou alkyloxy-carbonyle,
- 15 • soit un radical -NG<sub>1</sub>G<sub>2</sub> ou un radical de formule générale :

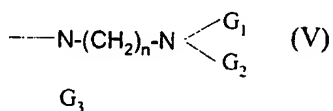


tels que définis ci-avant,

- 3) les substituants  $R_1$  à  $R_{11}$  et  $Z_1$  à  $Z_{11}$  sont tels que définis dans la revendication 3 en iii), et  $R_3$  est un radical de structure -S-Alk-R° pour lequel :
- 20 – Alk représente un radical alkylène contenant 2 à 6 atomes de carbone en chaîne droite ou ramifiée ou cycloalkylène contenant 3 à 6 atomes de carbone et
- R° représente
- soit un atome d'hydrogène, un radical hydroxy, carboxy ou alkyloxy-carbonyle,

- soit un radical -NG<sub>1</sub>G<sub>2</sub> pour lequel G<sub>1</sub> et G<sub>2</sub> identiques ou différents représentent des atomes d'hydrogène, ou des radicaux alkyle, cycloalkyle (3 à 6C), phényle éventuellement substitué (par un atome d'halogène, alkyloxy, alkyloxycarbonyle, amino, alkylamino ou dialkylamino), ou représentent des radicaux benzyle ou hétérocyclyle saturé ou insaturé contenant 5 ou 6 chaînons et 1 à 3 hétéroatomes, ou pour lequel G<sub>1</sub> et G<sub>2</sub> forment avec l'atome d'azote auquel ils sont rattachés un hétérocycle à 5 ou 6 chaînons pouvant contenir un autre hétéroatome choisi parmi l'azote, l'oxygène ou le soufre et éventuellement substitué par alkyle,

- soit un radical de formule générale :



tel que défini précédemment, ou bien

- 4) les substituants R<sub>1</sub> à R<sub>11</sub> et Z<sub>1</sub> à Z<sub>11</sub> sont tels que définis dans la revendication 3 en iv), et R<sub>3</sub> est un substituant :
- alkyle en C<sub>2</sub> à C<sub>6</sub>, alcényle, alcynyle, linéaires ou ramifiés, ces groupes pouvant encore être substitués par un groupe hydroxy, amino, alkylamino en C<sub>1</sub> à C<sub>4</sub>, dialkylamino en C<sub>1</sub> à C<sub>3</sub>, alkyloxy, ou acyloxy, ou
  - COOG<sub>4</sub> ou CONHG<sub>4</sub>, G<sub>4</sub> étant un alkyle contenant 1 à 4 atomes de carbone linéaire ou ramifié, ou
  - -Y-G<sub>5</sub> dans laquelle Y représente un atome de soufre S ou d'oxygène O, et G<sub>5</sub> est un alkyle en C<sub>1</sub> à C<sub>4</sub>, un alcényle ou un alcynyle, linéaires ou ramifiés, et dans laquelle si Y est un atome de soufre S, G<sub>5</sub> peut être aussi un aryle ou un hétéroaryle, ou
  - un groupement halogène, ou cyano, ou
  - CHG<sub>6</sub>G<sub>7</sub>, dans laquelle G<sub>6</sub> est un atome d'hydrogène, un groupement méthyle, éthyle, phényle, et G<sub>7</sub> est un atome d'hydrogène, ou un groupe hydroxy, halogène,



amino, alkylamino en C<sub>1</sub> à C<sub>4</sub>, dialkylamino en C<sub>1</sub> à C<sub>4</sub>, acyloxy, *t*-butoxycarbonyl-amino-éthoxy-éthoxy-acétyloxy, ou alkyloxycarbonyl, ou bien

5) Les substituants R<sub>1</sub> à R<sub>11</sub> et Z<sub>1</sub> à Z<sub>11</sub> sont tels que définis dans la revendication 3 en v), et R<sub>3</sub> est un groupement tel que l'on a en position -3 un résidu α-  
5 (méthylmercapto)-sarcosyl ou N-méthyl-(D)-alanyl, ou bien

6) Les substituants R<sub>1</sub> à R<sub>11</sub> et Z<sub>1</sub> à Z<sub>11</sub> sont tels que définis dans la revendication 3 en vi), et R<sub>3</sub> est un groupement C<sub>1-6</sub>alkyle, halogénoC<sub>1-6</sub>alkyle, hydroxyC<sub>1-6</sub>alkyle, mercaptoC<sub>1-6</sub>alkyle, amino C<sub>1-6</sub>alkyle, C<sub>2-5</sub>alkoxycarbonyl-amino-(C<sub>1-4</sub>alkyle), nitroC<sub>1-6</sub>alkyle, cyanoC<sub>1-5</sub>alkyle, C<sub>1-6</sub>alkoxy-(C<sub>1-6</sub>alkyle), C<sub>1-6</sub>alkylthio-(C<sub>1-6</sub>alkyle),  
10 C<sub>2-7</sub>alcanoyloxy-(C<sub>1-6</sub>alkyle), C<sub>2-7</sub>diazoalcanoyloxy-(C<sub>1-6</sub>alkyle), carboxy-(C<sub>1-6</sub>alkyle), C<sub>2-7</sub>alkoxycarbonyl-(C<sub>1-6</sub>alkyle), aminocarbonyl-(C<sub>1-4</sub>alkyle), aminocarbonyloxy-(C<sub>1-4</sub>alkyle), amino-(C<sub>1-4</sub> alcanoyloxy)-(C<sub>1-4</sub>alkyle), amino-(C<sub>2-9</sub>alkoxycarbonyl)-(C<sub>1-4</sub>alkyle), C<sub>2-7</sub> alkylcarbonyl, C<sub>2-7</sub>alkoxycarbonyl, C<sub>1-6</sub>alkylthio, hydroxy-C<sub>1-6</sub>alkylthio, C<sub>1-6</sub> alkoxy-(C<sub>1-6</sub>alkylthio),  
15 C<sub>2-11</sub>alcanoyloxy-(C<sub>2-4</sub>alkylthio), C<sub>2-11</sub>alcanoyloxy-(C<sub>2-4</sub>alkylsulfonyle), C<sub>2-11</sub>-alcanoyloxy-(C<sub>2-4</sub>alkylsulfonyle), aminocarbonyloxy-(C<sub>2-4</sub>alkylthio), C<sub>2-11</sub>amino-alcanoyloxy-(C<sub>2-4</sub>alkylthio), aminocarbonyloxy-(C<sub>2-4</sub>alkylsulfonyle), aminocarbonyl-oxy-(C<sub>2-4</sub>alkylsulfonyle), aminoalcanoyloxy-(C<sub>2-4</sub>alkylsulfonyle), aminoalcanoyloxy-(C<sub>2-4</sub>alkylsulfonyle), aminocarbonyl, C<sub>3-6</sub>alcényle, C<sub>3-6</sub>alcynyle, halogénoC<sub>3-6</sub>alcényle, halogénoC<sub>3-6</sub>alcynyle, hydroxy C<sub>3-6</sub>alcényle, aryl-(C<sub>1-6</sub>alkyle), aryl-(C<sub>1-6</sub>alkyle) hydroxylé, aryl-(C<sub>3-6</sub>alcényle), aryl-(C<sub>3-6</sub>alcynyle), aryl-(C<sub>3-6</sub>alcényle) hydroxylé, aryl-(C<sub>3-6</sub>alcynyle) hydroxylé, arylthio, hétéroarylthio, aryl-(C<sub>2-5</sub>alkoxycarbonylamino)-(C<sub>1-4</sub>alkyle), halogène, cyano, ou un groupe de formule Q-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-CO-O-CH<sub>2</sub>- pour laquelle n est 1,  
20 2, ou 3, et Q est amino, ou bien

7) les substituants R<sub>1</sub> à R<sub>11</sub> et Z<sub>1</sub> à Z<sub>11</sub> sont tels que définis dans la revendication 3 en vii), et R<sub>3</sub> est un groupement tel que l'on a en position -3 un acide aminé (D)-MeAla, ou bien

8) les substituants  $R_1$  à  $R_{11}$  et  $Z_1$  à  $Z_{11}$  sont tels que définis dans la revendication 3 en viii), et  $R_3$  est un groupement tel que l'on a en position -3 un  $\alpha$ -acide aminé N-méthylé en position  $\alpha$  et ayant la configuration (D),

5 par addition sur ledit polyanion d'un agent électrophile, les fonctions de la cyclosporine mise en jeu pouvant interférer avec la réaction ayant été le cas échéant préalablement protégées, suivie de l'élimination le cas échéant du/des radicaux protecteurs, puis éventuellement des étapes de séparation et de purification.

10 13. Procédé de préparation de dérivés de cyclosporine substitués en position -3 caractérisé en ce que l'on prépare un polyanion par traitement d'une cyclosporine par un amidure alcalin dans un mélange binaire comprenant de l'ammoniac liquide ou une amine aliphatique de bas poids moléculaire et un cosolvant, éventuellement en présence de diméthylpropylénurée, puis on additionne un agent électrophile, les radicaux hydroxy présents sur la cyclosporine et/ou les substituants de l'agent électrophile pouvant éventuellement interférer avec la réaction étant préalablement  
15 protégés, et élimine le cas échéant les radicaux protecteurs et/ou transforme éventuellement le produit obtenu en un sel lorsqu'ils existent.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/FR 98/02745

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 C07K7/64

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 97 04005 A (C-CHEM AG) 6 February 1997 cited in the application see the whole document ---	1-12
A	EP 0 194 972 A (SANDOZ PATENT GMBH) 17 September 1986 cited in the application see the whole document ---	1-12
A	D SEEBACH ET AL.: "Modification of cyclosporin A (CS). generation of an enolate at the sarcosine residue and reactions with electrophiles" JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY., vol. 76, 1993, pages 1564-1590, XP002022424 DC US see the whole document -----	1-12

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

14 April 1999

Date of mailing of the international search report

21/04/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Masturzo, P

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

International Application No

PCT/FR 98/02745

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9704005 A	06-02-1997	AU 6700196 A	18-02-1997
		CA 2226880 A	06-02-1997
		CN 1192750 A	09-09-1998
		CZ 9800051 A	15-04-1998
		EP 0842191 A	20-05-1998
		NO 980195 A	15-01-1998
		PL 324531 A	08-06-1998
EP 194972 A	17-09-1986	AT 78832 T	15-08-1992
		AU 3817689 A	02-11-1989
		AU 588860 B	28-09-1989
		AU 5448586 A	18-09-1986
		DE 3686183 A	03-09-1992
		DK 109486 A	12-09-1986
		FI 860993 A	12-09-1986
		GR 860646 A	11-07-1986
		JP 2027143 C	26-02-1996
		JP 7059594 B	28-06-1995
		JP 61212599 A	20-09-1986
		PH 22439 A	12-09-1988
		PT 82164 A, B	01-04-1986
		US 4771122 A	13-09-1988
		US 4703033 A	27-10-1987

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dema Internationale No

PCT/FR 98/02745

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE  
CIB 6 C07K7/64

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)  
CIB 6 C07K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	WO 97 04005 A (C-CHEM AG) 6 février 1997 cité dans la demande voir le document en entier ---	1-12
A	EP 0 194 972 A (SANDOZ PATENT GMBH) 17 septembre 1986 cité dans la demande voir le document en entier ---	1-12
A	D SEEBACH ET AL.: "Modification of cyclosporin A (CS). generation of an enolate at the sarcosine residue and reactions with electrophiles" JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY., vol. 76, 1993, pages 1564-1590, XP002022424 DC US voir le document en entier -----	1-12



Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents



Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

\* Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

14 avril 1999

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

21/04/1999

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale  
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Masturzo, P

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demr Internationale No

PCT/FR 98/02745

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9704005 A	06-02-1997	AU 6700196 A	18-02-1997
		CA 2226880 A	06-02-1997
		CN 1192750 A	09-09-1998
		CZ 9800051 A	15-04-1998
		EP 0842191 A	20-05-1998
		NO 980195 A	15-01-1998
		PL 324531 A	08-06-1998
EP 194972 A	17-09-1986	AT 78832 T	15-08-1992
		AU 3817689 A	02-11-1989
		AU 588860 B	28-09-1989
		AU 5448586 A	18-09-1986
		DE 3686183 A	03-09-1992
		DK 109486 A	12-09-1986
		FI 860993 A	12-09-1986
		GR 860646 A	11-07-1986
		JP 2027143 C	26-02-1996
		JP 7059594 B	28-06-1995
		JP 61212599 A	20-09-1986
		PH 22439 A	12-09-1988
		PT 82164 A,B	01-04-1986
		US 4771122 A	13-09-1988
		US 4703033 A	27-10-1987